

MICOTOXINAS NO TRIGO

Estratégias de Manejo para Minimizar a Contaminação

Casiane Salete Tibola
José Maurício Cunha Fernandes
Editores Técnicos



Micotoxinas no trigo
Estratégias de manejo para minimizar a
contaminação

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Trigo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

Micotoxinas no trigo

Estratégias de manejo para minimizar a contaminação

Casiane Salete Tibola
José Maurício Cunha Fernandes
Editores Técnicos

Embrapa
Brasília, DF
2020

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Trigo

Rodovia BR 285, Km 294
Caixa Postal 3081
Telefone: (54) 3316-5800
Fax: (54) 3316-5802
99050-970 Passo Fundo, RS
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Embrapa Trigo

Comitê Local de Publicações

Presidente

Gilberto Rocca da Cunha

Vice-Presidente

Luiz Eichelberger

Secretária

Marialba Osorski dos Santos

Membros

Alberto Luiz Marsaro Júnior

Alfredo do Nascimento Junior

Ana Lídia Variani Bonato

Elene Yamazaki Lau

Fabiano Daniel De Bona

Gisele Abigail Montan Torres

Maria Imaculada Pontes Moreira Lima

Normalização bibliográfica

Rochelle Martins Alvorcem (CRB 10/1810)

Tratamento das ilustrações e editoração eletrônica

Márcia Barrocas Moreira Pimentel

Capa

Gilberto Vanzetto Teixeira

Fotos da capa

Carrossel de fotografias (de dentro para fora)

Mãos com trigo - *Diogo Zanatta*

Semeadura de trigo - *Luiz Henrique Magnante*

Armazéns metálicos- *Diogo Zanatta*

Máquina de limpeza de grãos - *Rogério Delanora*

Processamento de grãos - *Casiane Salete Tibola*

Empacotamento de farinha - *Diogo Zanatta*

Grãos e pães - *Joseani Mesquita Antunes*

Capa

Gilberto Vanzetto Teixeira

1ª edição

Publicação digital - PDF (2020)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Trigo

Micotoxinas no trigo : estratégias de manejo para minimizar a contaminação / Casiane Salete Tibola, José Maurício Cunha Fernandes, editores técnicos. – Brasília, DF : Embrapa, 2020.

PDF (120 p.) : il. color.

ISBN: 978-65-86056-29-7

1. Giberela do trigo. 2. Doença de planta. 3. Fungo. 4. Composto tóxico. 5. Contaminantes. I. Tibola, Casiane Salete. II. Fernandes, José Maurício Cunha. III. Embrapa Trigo.

CDD (21. ed.) 631.56

Rochelle Martins Alvorcem (CRB 10/1810)

© Embrapa, 2020

Autores

Adriano Olnei Mallmann

Médico veterinário, Dr. em Medicina Veterinária, diretor técnico da Pegasus Science, Santa Maria, RS.

Bruna Cristina de Andrade

Engenheira-agrônoma, estudante de mestrado da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

Camila Primieri Nicolli

Engenheira-agrônoma, Dra. em Fitopatologia, pós-doutoranda da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Carlos Augusto Mallmann

Médico Veterinário, Dr. em Micotoxilogia, professor da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

Caroline Wesp Guterres

Bióloga, Dra. em Fitotecnia, pesquisadora da Cooperativa Central Gaúcha LTDA, Cruz Alta, RS.

Casiane Salete Tibola

Engenheira-agrônoma, Dra. em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

Denize Tyska

Zootecnista, MSc. em Zootecnia, diretora de P&D da Pegasus Science, Santa Maria, RS.

Emerson Del Ponte

Engenheiro-agrônomo, Dr. em Fitopatologia, professor da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Felipe de Vargas

Bacharel em Ciências da Computação, mestre em Computação Aplicada, programador independente, Passo Fundo, RS.

Flávio Martins Montenegro

Engenheiro de Alimentos, Dr. em Tecnologia de Alimentos, pesquisador do Instituto de Tecnologia de Alimentos, Campinas, SP.

Flávio Martins Santana

Engenheiro-agrônomo, Dr. em Fitossanidade/Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

José Maurício Cunha Fernandes

Engenheiro-agrônomo, Dr. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

Liliana de Oliveira Rocha

Farmacêutica, Dra. em Microbiologia, professora da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

Luísa Freire

Engenheira de Alimentos, MSc. em Ciência dos Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

Maria Teresa Pedrosa Silva Clerici

Farmacêutica-Bioquímica, Dra. em Engenharia de Alimentos, professora da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

Sabina Moser Tralamazza

Bióloga, Dra. em Microbiologia, pesquisadora na Universidade de Neuchâtel, Neuchâtel, Suíça.

Willingthon Pavan

Bacharel em Ciências da Computação, Dr. em Agronomia, cientista programador do International Fertilizer Development Center, Alabama, USA.

Apresentação

As micotoxinas são compostos tóxicos produzidos por fungos e representam um contaminante importante na alimentação humana e animal. O manejo destes contaminantes tornou-se uma preocupação crescente, considerando que, com base em dados de monitoramento e efeitos adversos à saúde, limites máximos de tolerância estão sendo estabelecidos por legislação, em níveis cada vez mais restritivos.

O livro *Micotoxinas no trigo: estratégias de manejo para minimizar a contaminação* tem por objetivo divulgar estratégias de manejo pré e pós-colheita para mitigar a contaminação do trigo e produtos derivados por micotoxinas, visando contribuir para a produção de alimentos seguros.

Nesta publicação foram reunidas as contribuições de equipe multidisciplinar e multi-institucional, abrangendo diferentes áreas: contaminação do trigo por micotoxinas; espécies de fungos toxigênicos e principais micotoxinas no trigo no Brasil; estratégias de manejo pré-colheita para reduzir contaminação do trigo por micotoxinas; modelos de previsão de giberela e de micotoxinas; métodos de análise de grãos com giberela e micotoxinas; efeito de métodos físicos de processamento de grãos na distribuição de micotoxinas em trigo e em produtos derivados; efeito de métodos químicos e microbiológicos para minimizar a contaminação de trigo por micotoxinas; efeito do processamento nos níveis de micotoxinas em produtos derivados de trigo; e, finalmente, redução de atividade de água e da carga microbiana na pós-colheita de trigo.

A equipe espera que as tecnologias e pesquisas atualizadas, compartilhadas no livro, sirvam como referência para assistentes técnicos e colaboradores que atuam na área de controle de qualidade, visando mitigar o impacto das micotoxinas na cadeia produtiva. Contribuindo assim, para a produção e comercialização de trigo e derivados mais seguros e saudáveis, com baixos níveis de micotoxinas, que atendam aos requisitos da legislação atual e futura, bem como a demanda dos consumidores.

Osvaldo Vasconcellos Vieira
Chefe-Geral da Embrapa Trigo

Sumário

Capítulo 1

Contaminação do trigo por micotoxinas

Casiane Salete Tibola, José Maurício Cunha Fernandes 11

Capítulo 2

Espécies micotoxigênicas e as principais micotoxinas no trigo

Camila Primieri Nicolli, Bruna Cristina de Andrade, Casiane Salete Tibola23

Capítulo 3

Estratégias de manejo pré-colheita para reduzir contaminação do trigo por micotoxinas

Caroline Wesp Guterres, Flávio Martins Santana38

Capítulo 4

Sistemas de alerta para ocorrência de epidemias de giberela

José Maurício Cunha Fernandes, Willingthon Pavan, Felipe de Vargas, Emerson Del Ponte51

Capítulo 5

Métodos de análise de grãos com giberela e micotoxinas

Carlos Augusto Mallmann, Denize Tyska, Adriano Olnei Mallmann.....59

Capítulo 6

Métodos físicos de processamento de grãos de trigo e distribuição de micotoxinas em produtos e derivados

Casiane Salete Tibola74

Capítulo 7

Níveis de micotoxinas em produtos derivados de trigo: alimentos extrusados, panificação e massas frescas

Liliana de Oliveira Rocha, Sabina Moser Tralamazza, Luísa Freire, Casiane Salete

Tibola.....89

Capítulo 8

Redução de atividade de água e da carga microbiana na pós-colheita de trigo

Flávio Martins Montenegro, Maria Teresa Pedrosa Silva Clerici..... 103

Introdução

A disponibilidade de alimentos é um dos problemas mais críticos enfrentados pela sociedade, especialmente devido ao rápido crescimento da população, à limitação de recursos naturais e à variabilidade climática. O trigo é a principal fonte de nutrientes para a população mundial. No Brasil, o consumo anual de trigo em 2019 foi de 12 milhões de toneladas e o consumo de farinha em 2019 foi de 40,62 kg/habitante/ano (Abitrigo, 2019).

No Brasil, a demanda de trigo é de aproximadamente 12,2 milhões de toneladas por ano, das quais 410.000 toneladas são sementes e 11,8 milhões de toneladas são usadas para moagem industrial em mais de 200 moinhos (De Mori; Ignaczak, 2011). A farinha de trigo é utilizada nos seguintes produtos derivados: panificação (55,3%); macarrão (14,1%); biscoitos (10,1%); uso doméstico (7,7%); e outros segmentos (12,8%) (De Mori; Ignaczak, 2011). Além disso, a farinha de trigo é usada como matéria-prima para diversos produtos, como massa de pizza, confeitaria e doces. A farinha de trigo integral é obtida pela moagem do grão de trigo integral, incluindo farelo, gérmen e endosperma. A farinha de trigo branca é feita somente com o endosperma.

As micotoxinas são compostos químicos tóxicos produzidos por algumas espécies de fungos. No campo, os principais fungos toxigênicos são: patogênicos para plantas, como *Fusarium graminearum* (deoxinivalenol e nivalenol); que se desenvolvem em plantas senescentes ou estressadas, como *Fusarium moniliforme* (fumonisina) e *Aspergillus flavus* (aflatoxina); e que colonizam a planta e predispõem o produto à contaminação por micotoxinas após a colheita, como *Penicillium verrucosum* (ocratoxina) e *A. flavus* (aflatoxina) (Tola; Kebede, 2016).

As micotoxinas são produzidas por fungos sob condições específicas, como alta umidade, alta temperatura e falhas na implementação de boas práticas agrícolas e de

armazenamento. Embora a presença de sintomas de fungos nos grãos não signifique necessariamente a presença de altos níveis de micotoxinas, existe este potencial. Além disso, a ausência de sintomas de fungos nos alimentos e nas rações não garante que estes estejam livres de micotoxinas, demandando a análise direta para estimar os níveis de contaminação.

Atualmente, existem aproximadamente 500 espécies de micotoxinas conhecidas e estima-se que outras 1.000 ainda não foram descobertas (Horky et al., 2018). Os principais gêneros de fungos produtores de micotoxinas são: *Aspergillus* que produz aflatoxinas (AFLA) e ocratoxina A (OTA); *Fusarium* produz deoxinivalenol (DON), zearalenona (ZEA), fumonisinas (FUMO) B1 e B2. As principais micotoxinas emergentes, que começaram a ser investigadas recentemente, são: fusaproliferina, moniliformina (MON), beauvericina (BEA) e eniatinas (EN), *Claviceps* (alcalóides do ergot) e *Alternaria* (altenueno, alternariol, alternariol éter metílico, altertoxina e ácido tenuazônico).

O maior desafio das micotoxinas emergentes é a escassez de estudos para realizar uma análise robusta sobre sua importância, toxicidade e possível necessidade de regulamentação na indústria de alimentos. EN e BEA são depsipeptídeos cíclicos que afetam a permeabilidade da membrana celular. Estudos recentes demonstraram que BEA e EN são capazes de causar estresse oxidativo, apoptose e necrose celular (Fraeyman et al., 2017; Mallebrera et al., 2018). MON está associada à inibição do suprimento de energia celular, aberrações cromossômicas e alteração da resposta imune (Fraeyman et al., 2017). Fusaproliferina demonstrou ter efeitos teratogênicos em embriões de galinhas e efeitos citotóxicos em linhagens celulares de insetos e humanos (Logrieco et al., 1996; Hoque et al., 2018). Surpreendentemente, ambas fusaproliferina e BEA apresentaram resultados positivos como potenciais agentes antineoplásicos (capacidade de inibir o crescimento e a disseminação de tumores) (Hoque et al., 2018). Porém estudos sobre a toxicidade dessas toxinas em humanos ainda é muito escasso.

Além destas, as micotoxinas conjugadas (mascaradas) representam grande risco, porque não há método estabelecido para a sua detecção (Horky et al., 2018). A micotoxina DON pode ser encontrada nos alimentos na forma conjugada com glicose, denominada deoxinivalenol-3-glicosídeo (DON-3-Glc). A resistência do trigo à infecção por *Fusarium* é parcialmente relacionada à sua capacidade de metabolizar DON e transformar em D3G, portanto, a alta proporção de D3G / DON pode ser positiva, minimizando os efeitos tóxicos de DON (Berthiller et al., 2013).

Nas últimas décadas muitos estudos foram conduzidos para definir as condições favoráveis para a contaminação por micotoxinas e propor alternativas para ações de mitigação. Entretanto, de acordo com o relatório anual do Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF), da União Européia, as micotoxinas são o principal perigo reportado nas notificações de rejeição na fronteira, com mais de 500 casos somente em 2018 (European..., 2018). Estes lotes rejeitados normalmente são oficialmente detidos, devolvidos à origem ou destruídos (Pięłowski, 2019). No futuro próximo, com continuidade da ausência de genótipos de trigo resistentes, projeta-se que o problema das micotoxinas tenha ainda mais importância devido a fatores como mudanças climáticas, disseminação e alterações na população de fungos toxigênicos e resistência dos fungos aos fungicidas.

Neste contexto, o objetivo desta publicação é divulgar estratégias de manejo pré e pós-colheita para minimizar a contaminação do trigo e produtos derivados por micotoxinas, visando contribuir para a produção de alimentos seguros. O livro inclui informações sobre a prevalência de fungos toxigênicos e micotoxinas no trigo no Brasil; estratégias de manejo pré-colheita para reduzir contaminação do trigo por micotoxinas; sistema de alerta para ocorrência de epidemias de giberela; métodos de análise de grãos com sintomas de giberela e micotoxinas; efeito dos métodos físicos na distribuição da contaminação do trigo por micotoxinas; efeito do processamento nos níveis de micotoxinas em produtos derivados de trigo; e impacto da redução de atividade de água e da carga microbiana na pós-colheita de trigo.

Aspectos epidemiológicos da giberela do trigo

A giberela do trigo é uma doença importante nas principais regiões produtoras do mundo e é a principal doença na região Sul do Brasil, que concentra 90% da produção de trigo. O principal agente causal da doença é *Gibberella zeae* Petch (Schwein.) (anamorfo *Fusarium graminearum* Schwabe) (Angelotti et al., 2006), um fungo homotático que sobrevive em restos de culturas.

O fungo produz esporos assexuais, macroconídios, que são liberados e dispersos pela ação da chuva e do vento. Sob condições de molhamento, peritécios são formados sobre os resíduos, liberando os ascósporos, esporos sexuais do fungo, para o ambiente acima do dossel da cultura (Del Ponte et al., 2004). Tanto macroconídios como ascósporos, em contato com as espigas, infectam os tecidos sob condições

de alta umidade e temperatura entre 20 e 30 °C, no período que vai da extrusão das anteras, consideradas o sítio primário de infecção, até estágios de enchimento de grãos (massa mole) (Del Ponte et al., 2004). Após a infecção, o fungo propaga-se através da ráquis aparecendo sintomas de senescência prematura das espiguetas infectadas, podendo se expandir por toda a espiga (Figura 1 A). Na Figura 1, podem ser verificados os sintomas característicos da doença na lavoura de trigo (A); em condições de umidade contínua, observa-se uma massa rosada de esporos na espiga do trigo (Figura 1 B); os grãos com sintomas de giberela são deformados, leves e com coloração branca e rosada (Figura 1 C).

No Brasil, similar a outras partes do mundo, um aumento da frequência de epidemias de alta intensidade de giberela foi relatada ao longo das últimas duas décadas, resultando em significativas perdas de rendimento (Fernandes, 1997; Panisson et al., 2003). No Sul do Brasil, em função dos restos culturais se manterem na superfície e da ausência de inverno rigoroso, o inóculo está disponível ao longo do ano (Del Ponte et al., 2009).

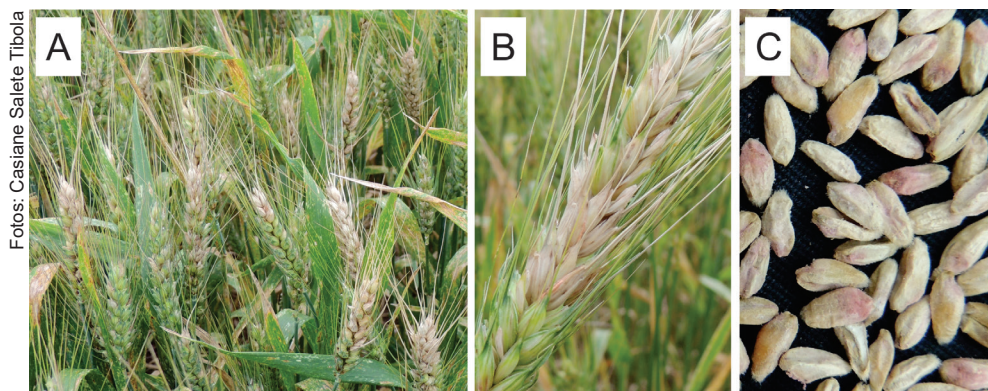


Figura 1. Sintomas de giberela em lavoura de trigo (A); presença da massa de esporos de coloração rosada na espiga (B); e grãos com sintomas de giberela (C).

Impactos das micotoxinas na economia e na saúde

No mundo, estimativa da FAO indica que, aproximadamente, 25% dos alimentos estejam contaminados com micotoxinas (FAO, 2003). Estima-se que cerca de cinco bilhões de dólares sejam perdidos anualmente devido a infecções fúngicas e

contaminação de grãos com micotoxinas somente na América do Norte (Hassan; Zhou, 2018). Esses custos incluem amostragens e análises para atender aos requisitos regulamentares e contratuais, mas também incluem altos custos de lotes destruídos ou devolvidos, além do tempo e as despesas de fornecimento e compra de lotes com a qualidade requerida pelos compradores para a reposição (Logrieco et al., 2018).

Em âmbito mundial a micotoxina DON apresenta maior relevância para trigo, devido à ampla distribuição nas principais regiões produtoras e aos altos níveis encontrados nos grãos. Na Europa, DON é normalmente detectado em mais de 50% das amostras analisadas. Em estudo de ocorrência e de exposição ao DON, 18.884 amostras coletadas entre 2007 e 2012 de países da União Européia (UE) e da Noruega foram analisadas, DON foi encontrado em 44,6%, 43,5% e 75,2%, de amostras de grãos não processados, alimentos e rações, respectivamente (European..., 2013). Na China, onde DON é o principal contaminante de trigo, um estudo envolvendo várias regiões produtoras indicou que mais de 80% das amostras foram positivas para DON, com níveis variando de 0,1 ppb-2.511 ppb (Woo; El-Nezami, 2014).

As micotoxinas são quimicamente estáveis e podem ser encontradas em alimentos prontos para o consumo, devido a sua resistência aos processos tecnológicos aos quais o trigo é submetido (Karlovsy et al., 2016). A sua ingestão pode causar prejuízos à saúde de humanos e animais, ocasionando a rejeição de alimentos, interferindo em sistemas hormonais, bem como afetando a imunidade geral e, assim, favorecendo o desenvolvimento de doenças crônicas, mesmo em concentrações muito baixas. As micotoxinas podem ocasionar distúrbios do sistema nervoso central, cardiotoxicidade, danos no trato gastrointestinal, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade (Horky et al., 2018).

As micotoxicoses em humanos, como outras síndromes toxicológicas, podem ser classificadas como agudas ou crônicas. A toxicidade aguda tem início rápido e uma resposta tóxica óbvia, enquanto a toxicidade crônica é caracterizada por baixa dose de exposição por um longo período (Public..., 2005). Casos de intoxicação aguda por DON já foram reportados na Índia, no Japão e na China (Safety..., 2001; Pestka, 2010). A exposição crônica a DON está associada ao atraso no crescimento, efeitos imunotóxicos e hematotóxicos (Pestka, 2010; Custódio et al., 2016).

Em humanos, o LD50 (dose letal média) oral para DON varia de 46 a 78 ppm. A FAO/OMS estabeleceu a ingestão diária tolerável máxima provisória (PMTDI) de 1 ppm de peso corporal (p.c.) para a soma de DON e suas formas acetiladas [3-acetil-

deoxinivalenol (3-ADON) e 15-acetil-deoxinivalenol (15-ADON)] (Evaluation..., 2011). Além disso, nesta mesma avaliação, o Comitê também estabeleceu uma dose de referência aguda (ARfD) de 8 ppm p.c. para a combinação de DON, 3AcDON e 15AcDON, baseada na observação de emese em suínos (Custódio et al., 2016).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Custódio et al., 2016) realizou a avaliação de risco da exposição humana ao DON pela dieta no Brasil. Os alimentos que mais contribuíram para a exposição da população foram o macarrão e o pão de trigo branco, com respectivamente 48,9% e 34,4% da ingestão total. Dessa forma, para avaliação da exposição crônica para os altos consumidores, foi utilizado o percentil 97,5 de consumo para o macarrão (5,94 g/dia/pc) e para o pão de trigo branco (3,40 gramas/dia/peso corporal). A exposição crônica ao DON estimada ficou entre 0,45-0,48 ppb/pc/dia para a população total e 3,0-3,2 ppb/pc/dia para os altos consumidores. A exposição aguda ao DON pela população brasileira ficou entre 14,8 e 15,1 ppb/pc/dia (limite inferior – limite superior), sendo o macarrão, pão, biscoito salgado e biscoito doce os alimentos que mais impactaram na ingestão, representando respectivamente 79,3%, 14,5%, 2,1% e 1,3% da exposição no limite inferior (Custódio et al., 2016).

Em estudo da exposição ao contaminante DON, com base no consumo de trigo a partir dos dados de consumo individual de alimentos da FAO/OMS, foi identificado que populações adultas no Brasil, China e Bélgica estão sendo submetidas a exposições ao DON que podem representar riscos crônicos para a saúde (Chen et al., 2019).

A farinha de trigo integral concentra compostos bioativos com alto potencial nutricional, sendo fonte de fibras alimentares e de antioxidantes que podem promover benefícios à saúde prevenindo a ocorrência de doenças crônicas (Yu, 2008). Como o crescimento de fungos toxigênicos e a produção de micotoxinas iniciam nas camadas mais externas do grão, o consumo de produtos integrais pode representar risco para a segurança do alimento, devido à maior intensidade de ocorrência de micotoxinas.

Kushiro (2008), descreveu os principais efeitos toxicológicos das micotoxinas de *Fusarium* nos animais. Na criação de animais, são relatadas inúmeras perdas decorrentes do consumo de rações contaminadas com micotoxinas, especialmente, porque há a utilização de farelo, que concentra os maiores teores de toxinas. As micotoxinas induzem ao edema pulmonar em suínos, diminuição do ganho de peso em frangos e aumento de peso de órgãos como o fígado, proventrículo e moela (Mallmann et al., 2007). Além disso, determinam impactos negativos importantes na cadeia produtiva devido ao menor desempenho e à mortalidade de animais (Mallmann et al., 2007).

Após a exposição aguda a DON, ocasionada pela ingestão de grandes quantidades de micotoxina em um curto período de tempo, os sintomas foram vômito e recusa da ração em animais, especialmente suínos, além de ocasionar gastroenterite com vômito em humanos (Bianchini et al., 2015). Os efeitos crônicos da ingestão alimentar de DON incluem redução do ganho de peso, anorexia e alterações na eficiência nutricional, além de afetar o sistema imunológico (Bianchini et al., 2015).

Legislação sobre micotoxinas

Para proteger os consumidores das micotoxicoses, muitos países estabeleceram níveis máximos permitidos para as micotoxinas mais prevalentes em cereais e derivados.

A legislação internacional sobre micotoxinas varia de acordo com o país, sendo que o nível aceitável de DON varia de 500 a 2.000 ppb para alimentos destinados ao consumo humano. O Codex Alimentarius, que inclui conjunto de padrões, diretrizes e códigos de práticas, estabeleceu o limite máximo de DON em trigo não processado em 2.000 ppb, na farinha de trigo em 1.000 ppb e nos produtos destinados à alimentação infantil em 200 ppb (Codex..., 2015).

A União Européia (EU) possui a legislação mais restrita para micotoxinas em alimentos. A partir de 1º de julho de 2006, foi estabelecido 1.250 ppb como limite máximo permitido de DON para cereais, 750 ppb para farinha e 500 ppb para produtos finais (pães, biscoitos e cereais matinais). Para ZEA, foi estabelecido 100 ppb como limite máximo permitido para grãos de cereais para alimentos destinados ao consumo humano (European..., 2006).

Nos Estados Unidos, o limite máximo tolerado (LMT) de DON em grãos processados é de 1.000 ppb; e no Canadá o LMT de DON é de 2.000 ppb para trigo antes do processamento e de 1.000 ppb em trigo (antes da limpeza) destinado à alimentação infantil (Bianchini et al., 2015).

No Brasil, a Resolução nº 7 estabelece o limite máximo tolerável (LMT) de DON, ZEA e OCRA para cereais destinados à alimentação humana (Agência..., 2011). O limite máximo permitido de DON em trigo não processado é de 3.000 ppb, no trigo moído é de 1.000 ppb, na farinha é de 750 ppb e nos produtos destinados à alimentação infantil é de 200 ppb (Agência..., 2011, 2017) (Tabela 1). Para ZEA, em 2017, o LMT é 20 ppb para

alimentos à base de cereais para alimentação infantil, 200 ppb para trigo integral e 100 ppb para farinha de trigo e demais derivados (Agência..., 2017) (Tabela 1).

Tabela 1. Limites máximos tolerados (LMT) de micotoxinas no trigo e produtos derivados no Brasil.

Micotoxina	Alimento	2011 LMT (ppb)	2019 LMT (ppb)
Deoxinivalenol	Alimentação infantil (lactentes e crianças de primeira infância)	200	-
Zearalenona		20	-
Ocratoxina A		2	-
Deoxinivalenol	Trigo e milho em grãos	-	3.000
	Trigo integral e farelo de trigo	-	1.000
	Farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação	-	750
	Trigo integral, farinha de trigo integral, farelo de trigo	-	200
Zearalenona	Farinha de trigo, massas, crackers e produtos de panificação	-	100
	Produtos de cereais	-	10

Fonte: Agência... (2017).

Considerações finais

Mesmo com o avanço do conhecimento sobre a giberela globalmente e no Brasil, o manejo desta doença ainda continua sendo um importante desafio. Em situações de epidemias de giberela em que há o aumento da concentração de micotoxinas nos grãos de trigo produzidos, os agricultores, encontram dificuldades para comercializar esse trigo e, até mesmo, utilizar o cereal para consumo na propriedade. No campo, a prevenção da contaminação por micotoxinas deve ser com a semeadura de cultivares mais resistentes, associada com a pulverização de fungicidas eficientes no momento correto. Entretanto, mesmo com a adoção destas estratégias, em anos com clima favorável à ocorrência de giberela, nem sempre é possível evitar a contaminação. Assim, é necessário adotar estratégias complementares para

minimizar a contaminação por micotoxinas na fase de pós-colheita (armazenamento e processamento).

Referências

ABITRIGO. **Estatísticas farinha de trigo**. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/categoria-estatisticas/farinha-de-trigo>. Acesso em: 10 dez. 2019.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, n. 37, p. 72, 21 ago. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 138, de 08 de fevereiro de 2017. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, para alterar os LMT da micotoxina deoxinivalenol (DON) em trigo e produtos de trigo prontos para oferta ao consumidor e os prazos para sua aplicação. **Diário Oficial da União**: seção 1, n. 29, p. 45, 09 fev. 2017.

ANGELOTTI, F.; TESSMANN, D. J.; ALVES, T. C. A.; VIDA, J. B.; JACCOUD FILHO, D. de S.; HARAKAVA, R. Morphological characterization and molecular identification of *Fusarium graminearum* isolates associated with *Fusarium* head blight in wheat and triticale in Southern Brazil. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 2, p.177-179, 2006. DOI 10.1590/S0100-54052006000200013.

BERTHILLER, F.; CREWS, C.; DALL'ASTA, C.; SAEGER, S. de; HAESAERT, G.; KARLOVSKY, P.; OSWALD, I. P.; SEEFELDER, W.; SPEIJERS, G.; STROKA, J. Masked mycotoxins: A review. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 57, n. 1, p. 165-186, Jan. 2013. DOI 10.1002/mnfr.201100764.

BIANCHINI, A.; HORSLEY, R.; JACK, M. M.; KOBIELUSH, B.; RYU, D.; TITTELMIER, S.; WILSON, W. W.; ABBAS, H. K.; ABEL, S.; HARRISON, G.; MILLER, D.; SHIER, T.; WEAVER, G. DON occurrence in grains: a north american perspective. **Cereal Foods World**, v. 60, n. 1, p. 32-56, Jan./Feb. 2015. DOI 10.1094/CFW-60-1-0032.

CHEN, C.; TURNA, N. S.; WU, F. Risk assessment of dietary deoxynivalenol exposure in wheat products worldwide: are new codex DON guidelines adequately protective? **Trends in Food Science & Technology**, v. 89, p.11-25, July 2019. DOI 10.1016/j.tifs.2019.05.002.

CODEX ALIMENTARIUS. International Food Standards. **General standard for contaminants and toxins in food and feed (codex stan 193-1995)**. Amended in 2015. Disponível em: http://www.fao.org/input/download/standards/17/CXS_193e_2015.pdf. Acesso em: 4 fev. 2020

CUSTÓDIO, F. B.; ANDRADE, P. D.; RIBEIRO, D. H. B. **Avaliação de risco da exposição humana ao deoxinivalenol (DON) pela dieta no Brasil**. Brasília: ANVISA, 2016. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3219534/Avalia%C3%A7%C3%A3o+de+risc+o+da+exposi%C3%A7%C3%A3o+humana+ao+deoxinivalenol+%28DON%29+pela+dieta+no+Brasil/4209eece-3fcf-46d9-a679-738851638147>. Acesso em: 9 nov. 2019.

DE MORI, C.; IGNACZAK, J. C. Aspectos econômicos do complexo agroindustrial do trigo. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. da (ed.). **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. p. 41-76. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/128236/1/2011-LVtrigonobrasil-cap3.pdf>. Acesso em: 6 nov. 2019.

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PAVAN, W.; BAETHGEN, W. E. A model-based assessment of the impacts of climate variability on Fusarium head blight seasonal risk in Southern Brazil. **Journal of Phytopathology**, v. 157, n. 11-12, p. 675-681, Nov. 2009. DOI 10.1111/j.1439-0434.2009.01559.x.

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PIEROBOM, C. R.; BERGSTROM, G. C. Giberela do trigo: aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 587-605, dez. 2004.

EUROPEAN COMMISSION. **RASFF: The Rapid Alert System for Food and Feed**. 2018 Annual Report. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2019. Disponível em: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2018.pdf. Acesso em: 09 fev. 2020.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Deoxynivalenol in food and feed: occurrence and exposure. **European Food Safety Authority Journal**, v. 11, n. 10, 2013.

EUROPEAN UNION. Commission Regulation (EC) 401/2006. **Official Journal of the European Union**, L 70, n. 12, 2006.

EVALUATION of certain contaminants in food: seventy-second report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2011. 115 p. (WHO Technical Report Series, 959).

FAO. **Manual sobre la aplicación del sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas**. Roma, 2003. 130 p. (Estudio FAO alimentación nutrición, 73).

FERNANDES, J. M. C. As doenças das plantas e o sistema de plantio direto. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 5, p. 317-352, 1997.

FRAEYMAN, S.; CROUBELS, S.; DEVREESE, M.; ANTONISSEN, G. Emerging fusarium and alternaria mycotoxins: occurrence, toxicity and toxicokinetics. **Toxins**, v. 9, n. 7, p. 228, July 2017. DOI 10.3390/toxins9070228.

HASSAN, Y. I.; ZHOU, T. Promising detoxification strategies to mitigate mycotoxins in food and feed. **Toxins**, v. 10, n. 3, p. 1-5, Mar. 2018. DOI 10.3390/toxins10030116.

HOQUE, N.; HASAN, C. M.; RANA, M. S.; VARSHA, A.; SOHRAB, M. H.; RAHMAN, K. M. Fusaproliferin, a fungal mycotoxin, shows cytotoxicity against pancreatic cancer cell lines. **Molecules**, v. 23, n. 12, p. 3288, Dec. 2018. DOI 10.3390/molecules23123288.

HORKY, P.; SKALICKOVA, S.; BAHOLET, D.; SKLADANKA, J. Nanoparticles as a solution for eliminating the risk of mycotoxins. **Nanomaterials**, v. 8, n. 9, p. 727, Sept. 2018. DOI 10.3390/nano8090727.

KARLOVSKY, P.; SUMAN, M.; BERTHILLER, F.; DE MEESTER, J.; EISENBRAND, G.; PERRIN, I.; OSWALD, I. P.; SPEIJERS, G.; CHIODINI, A.; RECKER, T.; DUSSORT, P. Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. **Mycotoxin Research**, v. 32, p. 179-205, 2016. DOI 10.1007/s12550-016-0257-7.

KUSHIRO, M. Effects of milling and cooking processes on the Deoxynivalenol content in wheat. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 9, n. 11, p. 2127-2145, Nov. 2008. DOI 10.3390/ijms9112127

LOGRIECO, A. F.; MILLER, J. D.; ESKOLA, M.; KRSKA, R.; AYALEW, A.; BANDYOPADHYAY, R.; BATTILANI, P.; BHATNAGAR, D.; CHULZE, S.; DE SAEGER, S.; LI, P.; PERRONE, G.; POAPOLATHEP, A.; RAHAYU, E. S.; SHEPHARD, G. S.; STEPMAN, F.; ZHANG, H.; LESLIE, J. F. The mycotoxin charter: Increasing awareness of, and concerted action for, minimizing mycotoxin exposure worldwide. **Toxins**, v. 10, n. 4, p. 149, Apr. 2018. DOI 10.3390/toxins10040149.

LOGRIECO, A.; MORETTI, A.; FORNELLI, F.; FOGLIANO, V.; RITIENI, A.; CAIAFFA, M. F.; RANDAZZO, G.; BOTTALICO, A.; MACCHIA, L. Fusaproliferin production by *Fusarium subglutinans* and its toxicity to *Artemia salina*, SF-9 insect cells, and IARC/LCL 171 human B lymphocytes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 62, n. 9, p. 3378-3384, Sept. 1996. DOI 10.1128/AEM.62.9.3378-3384.1996.

MALLEBRERA, B.; PROSPERINI, A.; FONT, G.; RUIZ, M. J. In vitro mechanisms of Beauvericin toxicity: a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 111, p. 537-545, Jan. 2018. DOI 10.1016/j.fct.2017.11.019.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e micotoxicoses em suínos**. Santa Maria: Sociedade Vicente Pallotti Editora, 2007. 232 p.

PANISSON, E.; REIS, E. M.; BOLLER, W. Quantificação de danos causados pela giberela em cereais de inverno, na safra 2000, em Passo Fundo, RS. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 2, p. 189-192, 2003. DOI 10.1590/S0100-41582003000200013.

PESTKA, J. J. Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. **Archives of Toxicology**, v. 84, n. 9, p. 663-679, Sept. 2010. DOI 10.1007/s00204-010-0579-8.

PIGŁOWSKI, M. Comparative analysis of notifications regarding mycotoxins in the Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v. 11, n. 8, p. 725-735, Oct. 2019. DOI 10.3920/QAS2018.1398.

PUBLIC health strategies for preventing aflatoxin exposure. Geneva: Internacional Mycotoxin Workshop, july 2005. 26 p. https://www.who.int/ipcs/events/2005/workshop_report.pdf?ua=1. Acesso em: 10 fev. 2019.

SAFETY evaluation of certain mycotoxins in food. Geneva: World health Organization, 2001. 701 p. (WHO Food Additives Series, n. 47; Food and nutrition paper, 74).

TOLA, M.; KEBEDE, B. Occurrence, importance and control of mycotoxins: A review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, article 1191103, 2016. DOI 10.1080/23311932.2016.1191103.

WOO, C. S. J.; EL-NEZAMI, H. Mycotoxins in Asia: Is China in danger? **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, v. 7, n. 1, p. 3-25, Nov. 2014. DOI 10.3920/QAS2014.x005.

YU, L. (ed.). **Wheat antioxidants**. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2008.

Capítulo 2

Espécies micotoxigênicas e as principais micotoxinas no trigo

Camila Primieri Nicolli
Bruna Cristina de Andrade
Casiane Salete Tibola

Introdução

Giberela é uma doença causada por espécies do complexo *Fusarium graminearum* (FGSC) e a doença de maior importância na cultura do trigo no sul do Brasil. As espécies de *Fusarium* causadoras de giberela são micotoxigênicas, o que lhes confere a capacidade de sintetizar substâncias tóxicas no processo de colonização dos grãos. Portanto, além do impacto na produtividade, essa doença afeta a qualidade dos grãos produzidos. As toxinas comumente encontradas em grãos e subprodutos de trigo são zearalenona (ZEA) e as micotoxinas do grupo dos tricotecenos, pois são as principais toxinas produzidas pelas espécies causadoras da giberela. Dentre as principais micotoxinas do grupo tricoteceno destaca-se: deoxinivalenol (DON) e suas formas acetiladas [3-acetil-deoxinivalenol (3-ADON) e 15-acetil-deoxinivalenol (15-ADON)]; e nivalenol (NIV). Este capítulo objetiva relatar as principais espécies do FGSC agentes causais da giberela em trigo, os genótipos tricotecenos das espécies do FGSC, as principais micotoxinas encontradas em trigo e as micotoxinas emergentes na cultura do trigo no Brasil.

Espécies do complexo *Fusarium graminearum*

O gênero *Fusarium* é constituído por mais de 90 espécies descritas e provavelmente muitas outras espécies ainda não descritas (Leslie; Summerell, 2006). As espécies do gênero *Fusarium* foram estruturadas em diferentes complexos. Aqui vamos relatar sobre o complexo de espécies *Fusarium graminearum* (FGSC) que contém 16 espécies filogenéticas determinadas através do sequenciamento de 12 genes primários (O'Donnell et al., 2000a, 2004, 2008; Starkey et al., 2007; Yli-Mattila et al., 2009; Sarver et al., 2011), das quais 15 foram formalmente descritas. As espécies

filogeneticamente identificadas são: *Fusarium acacia-mearnsii*, *F. aethiopicum*, *F. asiaticum*, *F. austroamericanum*, *F. boothii*, *F. brasilicum*, *F. cortaderiae*, *F. gerlachii*, *F. graminearum* sensu stricto, *F. meridionale*, *F. mesoamericanum*, *F. ussurianum*, *F. vorosii*, *F. nepalense* e *F. lousianense* (O'Donnell et al., 2004; Starkey et al., 2007; Yli-Mattila et al., 2009; Sarver et al., 2011). No entanto, nem todas as espécies pertencentes a esse complexo estão presentes na cultura do trigo e/ou tão pouco são agentes causais da giberela do trigo.

As práticas agrícolas têm grande influência na prevalência de espécies de fungos, entretanto a predominância das espécies de *Fusarium* é determinada principalmente por fatores climáticos, como a temperatura e a umidade (Xu et al., 2008). No Brasil, diversos estudos de identificação das espécies do FGSC foram conduzidos nos estados do Rio Grande do Sul e do Paraná por meio da coleta de isolados do patógeno associados a espigas de trigo sintomáticas no campo ou grãos colhidos em lavouras comerciais (Astolfi et al., 2012; Del Ponte et al., 2015). O resultado do estudo de uma coleção de 671 isolados identificou cinco espécies do FGSC em trigo, sendo elas: *F. graminearum* sensu stricto (83%), *F. meridionale* (12,8%), *F. cortaderiae* (2,5%), *F. austroamericanum* (0,9%) e *F. asiaticum* (0,4%) (Del Ponte et al., 2015).

Além dos fatores climáticos, a frequência dessas espécies no Brasil está fortemente relacionada ao hospedeiro de origem e à região geográfica (Del Ponte et al., 2015). No estado do Rio Grande do Sul, a alta pressão de inóculo por *F. graminearum* sensu stricto foi identificada em campos de produção abaixo de 600 metros de altitude e com elevada incidência de giberela. No estudo de Del Ponte et al. (2015) foi avaliado as diferenças específicas do habitat na composição das espécies do FGSC. Para isso, um total de 189 isolados oriundos de restolho de milho, da atmosfera acima do dossel de plantas de trigo e grãos de trigo sintomáticos foram avaliados. Esses autores identificaram diferenças significativas na composição das espécies do FGSC entre esses habitats. Tendo como resultado *Fusarium graminearum* sensu stricto a espécie dominante entre os isolados de grãos de trigo infectados. Enquanto, nos restos culturais de milho, as espécies *F. meridionale* e *F. cortaderiae* foram as predominantes. Já a composição obtida dos isolados da atmosfera acima do dossel das plantas de trigo foi intermediária entre as espécies dos grãos de trigo e do restolho de milho.

No estado do Paraná, a frequência relativa de *F. meridionale* em trigo é maior quando comparada com a sua frequência no estado do Rio Grande do Sul (Del Ponte et al., 2015). Além disso, também foram analisadas as espécies presentes nos restolhos de

milho, e *F. meridionale* e *F. cortaderiae* foram as espécies responsáveis pela grande maioria dos isolados identificados, que, por sua vez, servem de inóculo para novas infecções na cultura do trigo (Kuhnem et al., 2016). Diante disso e considerando que a composição das espécies parece estar fortemente relacionada ao hospedeiro de origem, as espécies *F. graminearum* e *F. meridionale* foram inoculadas em espigas de trigo (Spolti et al., 2012) e em plântulas de milho (Kuhnem et al., 2015) para observar a preferência pelo hospedeiro. O resultado obtido foi que a espécie *F. graminearum* foi mais agressiva em trigo e que a espécie *F. meridionale* colonizou melhor o milho. Em resumo, as duas espécies mais frequentes no sul do Brasil são *F. graminearum* sensu stricto causando giberela em trigo e *F. meridionale* associado com milho (Del Ponte et al., 2013).

Genótipos tricotecenos das espécies do complexo *Fusarium graminearum*

O genótipo tricoteceno é a identificação dos genes responsáveis pela biossíntese da produção das micotoxinas do grupo dos tricotecenos. Para determinar o potencial toxigênico das espécies de *Fusarium*, estudos foram realizados através de métodos moleculares identificando os genes responsáveis pela produção das micotoxinas do grupo dos tricotecenos. Baseado nesses estudos, observou-se que os genótipos tricotecenos associados às espécies presentes no Brasil se apresentam relativamente estruturados nas espécies do complexo *F. graminearum*. Isso significa que, os isolados da espécie *F. graminearum* apresentaram os genes responsáveis pela produção principalmente da micotoxina 15-ADON e os isolados das espécies *F. meridionale* e *F. asiaticum* apresentaram os genes responsáveis pela produção da micotoxina NIV. Já as espécies *F. cortaderiae* e *F. austroamericanum* apresentaram genotipagem para produção de 3-ADON e/ou NIV (Del Ponte et al., 2012).

No sul do Brasil, um estudo realizado com 82 isolados de *F. graminearum* obtidos de amostras de grãos de trigo sintomáticos, demonstrou a predominância de isolados 15-ADON, não sendo detectado o tipo 3-ADON (Scoz et al., 2009). Isolados identificados geneticamente como NIV foram detectados em seis indivíduos obtidos de amostras de distintos locais, distribuídos de maneira aleatória e em co-ocorrência com o tipo 15-ADON na mesma amostra (Scoz et al., 2009). Em outro estudo, Astolfi et al. (2012) amostraram três áreas de trigo no Rio Grande do Sul. Destas três populações, um total de 140 isolados do FGSC foram analisados quanto à frequência do genótipo

tricoteceno. A diversidade genética foi avaliada e o genótipo 15-ADON foi dominante, seguido pelo genótipo NIV nas três populações amostradas. Ainda, todos os isolados do genótipo NIV foram identificados como sendo da espécie *F. meridionale* e todos os isolados do genótipo 15-ADON da espécie *F. graminearum* (Astolfi et al., 2012). No Sul do Brasil, a espécie *F. graminearum* apresenta predominância (90%) seguida por *F. meridionale* (10%; Astolfi et al., 2012).

Sumarizando, no Brasil, a principal espécie causal em trigo é *F. graminearum* que possui o genótipo 15-ADON (Scoz et al., 2009; Astolfi et al., 2012); enquanto *F. meridionale* possui o genótipo NIV sendo o principal patógeno no milho. Mais recentemente, a espécie *F. asiaticum* com genótipo NIV foi mais comumente encontrado na cultura do arroz (Del Ponte et al., 2013; Gomes et al., 2015).

Principais micotoxinas em trigo no Brasil

Diversas instituições e pesquisadores estão trabalhando em contaminação por micotoxinas do trigo brasileiro e a principal contaminação encontrada é a causada pela micotoxina DON, tanto na incidência quantos nos níveis de contaminação (Custódio, 2016). A detecção desta micotoxina ocorre em todos os tipos de alimentos que incluem trigo e seus derivados (Custódio, 2016). Neste tópico vamos relatar sobre as micotoxinas e as concentrações de DON detectadas em amostras de trigo ao longo dos anos de 2007 a 2018. Vale lembrar que a resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determinou limites máximos tolerados (LMT) para DON entrando em vigor em 2012. Ao longo dos anos, a legislação brasileira foi se tornando mais rígida em relação à concentração de DON permitida nos alimentos. Em 2012, a concentração máxima de DON permitida para trigo integral era de 2.000 ppb, enquanto que para farinha de trigo e seus derivados era de 1.750 ppb (Agência..., 2011). A redução da concentração dos níveis de DON permitida foi gradual ao longo dos anos. Atualmente, o LMT de DON é de 1.000 ppb para trigo integral e de 750 ppb para farinha de trigo e seus derivados (Agência..., 2017).

A análise de 50 amostras de trigo brasileiro e 50 de importado apresentou níveis médios de DON de 332 ppb e 90 ppb, em 94% e 88% das amostras, respectivamente (Calori-Domingues et al., 2007). Já em cultivos nos anos de 2009 a 2011, 12 em 64 amostras comerciais de trigo apresentaram níveis de DON acima de 1.000 ppb e média geral de 540 ppb (Del Ponte et al., 2012). Na safra de 2012, Tralamazza et al.

(2015) relataram média para DON de 426 e 453 ppb em amostras dos estados de PR e SP, respectivamente, e 1.200 ppb em amostras do RS. Savi et al. (2014), estudaram a ocorrência de fungos e DON em 53 amostras de grãos de trigo coletadas no sul do Brasil durante a safra de 2012. Para o gênero *Fusarium*, ocorreu predominância de *Fusarium verticillioides* (34%) e *F. graminearum* (30,2%) e a micotoxina deoxinivalenol (DON) foi detectada em 47,2% (25 de 53) das amostras analisadas, com níveis variando de 243,7 a 2.281,3 ppb. Ainda, Silva et al. (2015) analisaram a ocorrência de micotoxinas em duas regiões do Brasil, Pato Branco (Paraná) e em Coxilha (Rio Grande do Sul) em que a micotoxina deoxinivalenol foi detectada em 97% das amostras, com concentrações de 200 a 4.140 ppb. No entanto, apenas 17% das amostras apresentaram DON acima do limite máximo permitido pela ANVISA até o ano de 2012.

Na safra de 2015, Duffeck et al. (2017) analisaram níveis de DON, ZEA e OCRA em 100 amostras de trigo comerciais. A micotoxina DON foi detectada em 55% das amostras, com níveis variando de 200 ppb (limite de detecção) a 2.743 ppb nas amostras positivas, com média (mediana) de 795,2 (682,8) ppb nessas amostras positivas. Considerando todas as amostras, positivas e negativas, os valores médios e medianos foram 437,4 ppb e 210,4 ppb, respectivamente. No mesmo estudo, a micotoxina ZEA foi detectada em 39% das amostras, com uma média geral (mediana) de 79,78 (35,90) ppb nas amostras positivas. Houve correlação significativa e positiva entre DON e ZEA determinada usando UHPLC ($r = 0,77$, $S = 36728$, valor de $P < 0,0001$). A Ocratoxina A não foi encontrada nas amostras.

No Sul do Brasil, numa análise de 545 amostras, a micotoxina DON foi detectada em 81% das amostras, com média de concentração de 1.686 ppb (Tibola et al., 2013). De acordo com dados de monitoramento da Embrapa Trigo (Figura 1), incluindo 1.000 amostras de trigo comerciais produzidas no período de 2009 a 2017, 36% das amostras estavam acima do atual limite permitido para DON (1.000 ppb). No Rio Grande do Sul, a média de DON obtidas nestas amostras comerciais foi de 1.500 ppb (safra 2009 a 2017).

Mallmann et al. (2017) reportaram que 30% das 1.043 amostras de trigo coletadas durante o período de 2005 a 2015, no sul do Brasil, excederam o limite superior de 1.250 ppb para DON, estabelecido pela regulamentação brasileira em 2017. Os níveis médios anuais de DON variaram de 346 ppb a 1.274 ppb, e a concentração média encontrada nas amostras de trigo de 2005 a 2015 foram de 660 ppb de DON nesse mesmo período. Em 2014, foram registrados os maiores níveis de DON, no qual

58% das amostras estavam acima do LMT (1.250 ppb), com média de 1.274 ppb. A concentração média anual de ZEA foi de 111 ppb para trigo, sendo que os maiores níveis foram registrados em 2008 e 2009 (Mallmann et al., 2017).

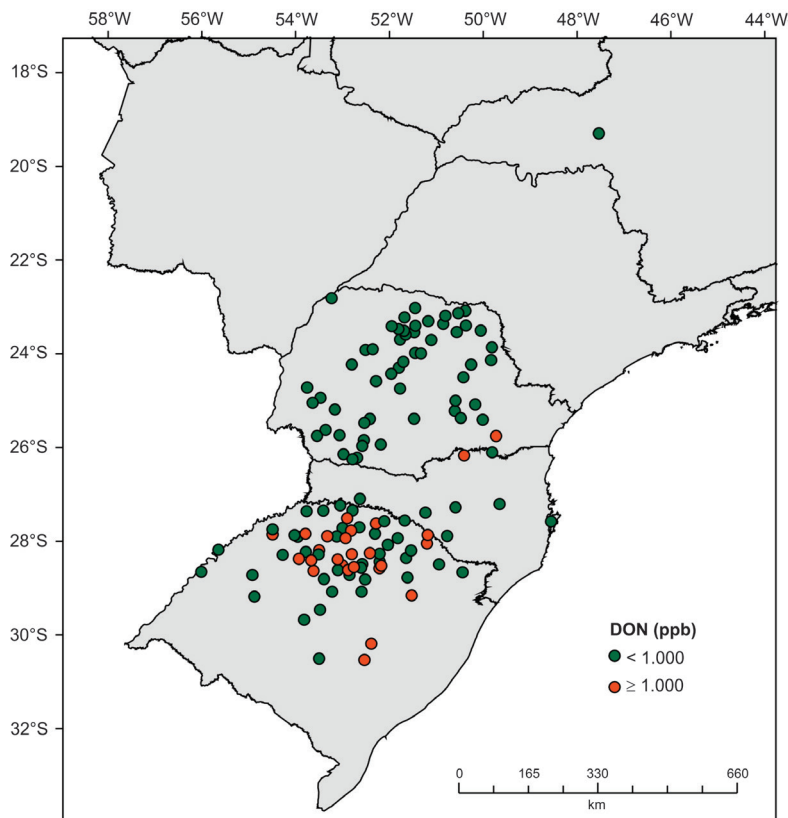


Figura 1. Distribuição espacial de níveis de deoxinivalenol em amostras comerciais de trigo obtidas no período de 2009 a 2017. Os círculos representam a localização geográfica dos municípios e a coloração indica as amostras com níveis acima ou igual (vermelho) e abaixo (verde) de 1.000 ppb.

Fonte: Embrapa Trigo – dados não publicados.

Na safra 2015/2016, Guarienti et al. (2018) analisaram a presença das micotoxinas ZEA e DON em 100 amostras de trigo coletadas em diferentes estados. A micotoxina DON foi detectada em 55% das amostras. Os níveis de DON variaram de 200 ppb e 2.743 ppb e a concentração média foi de 795,2 ppb nas amostras positivas. Dentre as 34 amostras do Rio Grande do Sul 32 amostras foram positivas para DON. No estado do Paraná, de um total de 61 amostras 22 amostras foram positivas e no estado de São

Paulo uma amostra em 5 amostras apresentou resultado positivo para DON. A micotoxina zearalenona (ZEA) foi detectada em 39% das amostras, com média de 79,8 ppb nas amostras positivas. A frequência de amostras positivas para ZEA foi de 24 amostras em 34 amostras do Rio Grande do Sul e de 15 amostras em 61 amostras do Paraná. No estado de São Paulo, nenhuma amostra apresentou níveis detectáveis de ZEA.

Guarienti et al. (2018) realizaram as mesmas análises em amostras de trigo da safra 2016/2017. Nesta safra, foram analisadas 36 amostras de trigo e a micotoxina DON foi detectada em 58% das amostras. Os níveis de DON variaram de 200 ppb e 901 ppb e a média da concentração de DON foi de 380,4 ppb nas amostras positivas. A frequência de amostras positivas para DON foi de 13 amostras em 15 amostras do Rio Grande do Sul, de 3 amostras em 15 amostras do Paraná e em todas as 5 amostras de Santa Catarina. A micotoxina zearalenona (ZEA) foi detectada em 14% das amostras, com média de 27,8 ppb, nas amostras positivas, e níveis variando entre 20 ppb e 39 ppb. A frequência de amostras positivas para ZEA foi de 3 amostras em 15 amostras do Rio Grande do Sul e de 2 amostras em 5 amostras de Santa Catarina. Nos estados do Paraná e de Minas Gerais, nenhuma amostra apresentou níveis detectáveis de ZEA.

O armazenamento inadequado de grãos de trigo propicia a proliferação de fungos toxigênicos, dentre os quais, o gênero *Aspergillus* ganha destaque pela produção de Aflatoxina (AFLA) B1, B2, G1 e G2 e Ocratoxina A (OCRA). AFLA é produzida pelos fungos *Aspergillus flavus*, *A. nomius* e *A. parasiticus*, enquanto OCRA é produzida por *A. carbonarius*, *A. ochraceus*, *A. sclerotiorum* e *A. sulphureus*. Ambas micotoxinas são de importância na pós-colheita e se agravam quando a conservação dos grãos se dá em ambiente de umidade e temperatura elevadas (Ilanamaka et al., 2010).

As micotoxinas são quimicamente estáveis e tendem a se manter íntegras durante o processo de beneficiamento e armazenamento dos grãos. Os fatores envolvidos no acúmulo de micotoxinas na pós-colheita são alta umidade e temperatura na massa de grãos, armazenamento prolongado e grãos danificados (Tibola et al., 2013).

Micotoxinas emergentes no trigo

As mudanças climáticas, bem como os sistemas de produção exercem influência direta no perfil das espécies de fungos. O efeito da possível mudança de espécies de *Fusarium* em diferentes locais, considerando futuros cenários ambientais foi relatada

em trabalhos como os de Moretti et al. (2019), Zhang et al. (2014) e Paterson e Lima (2011). Na Europa, *F. graminearum* está se tornando a espécie prevalente devido ao aumento de temperatura (Moretti et al., 2019). Na parte central da China, as mudanças climáticas aumentaram o risco de epidemias severas de giberela, com implicações na segurança dos alimentos, devido aos altos níveis da micotoxina DON (Zhang et al., 2014).

Em estudo sobre o aumento da temperatura global e a interferência no acúmulo de micotoxinas, Tessmann et al. (2018) verificaram que a elevação da temperatura do solo é um fator potencial para a pressão de giberela, bem como o acúmulo de micotoxinas em grãos de trigo. Essa pesquisa foi conduzida no estado do Kentucky nos Estados Unidos e teve como objetivo avaliar o comportamento dos genótipos, a severidade e incidência de giberela e entre outras características agrônômicas relacionadas ao programa de melhoramento de trigo. Os índices de grãos giberelados e micotoxinas aumentaram em 131% e 84% no tratamento onde a temperatura do solo elevou em 3-5 °C. Por conseguinte, o nível médio de DON em condições de aquecimento foi de 16,74 ppm, enquanto o tratamento controle obteve 8,23 ppm.

Resultados de Vujanovic et al. (2012) corroboraram com a hipótese que mudanças climáticas e alterações na dinâmica de espécies/populações de *F. graminearum* podem influenciar na produção de metabólitos secundários e micotoxinas. Nesse estudo, isolados 3-ADON de *F. graminearum* foram mais resistentes em condições extremas de temperatura, isto é, em resposta ao calor ou ao frio. Nestas condições, esses isolados tornam-se mais agressivos produzindo mais DON e ZEA, quando comparados aos isolados da subpopulação de 15-ADON.

O efeito do sistema de produção também é um fator relatado na mudança nos níveis de micotoxinas. Nesta linha de pesquisa, investigou-se os efeitos dos sistemas de cultivo (plantio direto x convencional) de trigo na severidade da giberela e nos níveis das micotoxinas: DON, NIV e ZEA. A severidade da giberela e os níveis de toxinas diferiram consideravelmente entre os anos, refletindo os efeitos climáticos. Em um determinado ano, a severidade da giberela diferiu entre os sistemas de cultivo, com a doença mais severa observada nas parcelas de plantio direto do que no plantio convencional. O nível de contaminação dos grãos pelas micotoxinas depende, portanto, do clima e do sistema de cultivo. Os níveis de micotoxinas foram mais altos no ano com a maior severidade da doença e os níveis de contaminação foram mais altos com o sistema de plantio direto (Champeil et al., 2004).

Em geral, espera-se que as mudanças climáticas aumentem a contaminação por micotoxinas nas culturas. No que se refere à complexidade da micoflora associada a cada cultura e sua interação com o meio ambiente, é certo que o padrão de distribuição de micotoxinas em todo o mundo mudará com os efeitos das mudanças climáticas, manejo e sistema de produção. Portanto, a contaminação por multimicotoxinas é esperada na maioria dos produtos destinados ao consumo humano e animal (Vaughan et al., 2016).

Dentre as micotoxinas produzidas pelas espécies membros do complexo *F. graminearum*, DON é a micotoxina mais frequente e em maior concentração no trigo em todo o mundo. No entanto, outras micotoxinas têm sido encontradas em trigo comercial, como nivalenol (Del Ponte et al., 2015) e fumonisina B₁ (FB₁) (Mendes et al., 2015). A fumonisina B₁ (FB₁), embora seja uma micotoxina pouco estudada em trigo e também é produzida por espécies do gênero *Fusarium*, foi frequentemente detectada neste cereal, principalmente em regiões subtropicais, como o Sul do Brasil, onde 54% das amostras estavam contaminadas com FB₁, em níveis variando de 958 a 4906 ppb (Mendes et al., 2015).

A diversidade de espécies de *Fusarium* associadas à giberela tem como principal representante espécies de FGSC. Neste grupo, pode-se destacar a presença de *F. graminearum sensu strictu*, *Fusarium meridionale*, *F. cortaderi* e *F. amaricanum*, os quais tem potencial para a produção das micotoxinas DON, e suas formas acetiladas, 3-ADON, 15-ADON e NIV (Del Ponte, et al., 2015; Pereira et al., 2020).

No entanto, a presença de outras espécies, como por exemplo *F. poae*, foi identificada no patossistema de giberela em regiões produtoras de trigo do Paraná. Sua frequência, relativamente alta, teve representatividade de 11% em coleção de isolados prospectada em trigo e cevada. A ocorrência de *F. poae* é sazonal, isto é, relacionada ao ano agrícola de clima mais seco. Estudos realizados até o momento sugerem que os patógenos menos dominantes podem ser importantes em regiões ou anos em que o clima não é favorável a surtos de giberela por FGSC (Pereira et al., 2020). Além disso, *F. poae* é conhecido por seu potencial toxigênico e ser um produtor típico de tricotecenos do tipo B (NIV) e do tipo A como diacetoxyscirpenol (DAS) (O'Donnell et al., 2015). O estudo de Pereira et al. (2020), verificou a produção in vitro das micotoxinas diacetoxyscirpenol (DAS), diANIV e butanolide.

Recentemente, foi confirmada a existência do complexo de *F. tricinctum* (FTSC) em lavouras de trigo na região sul do Brasil (Moreira et al., 2020). Sabe-se que FTSC

predomina em áreas de produção com baixa temperatura, tais como o Canadá e o norte do continente europeu (Bottalico; Perrone, 2002). Assim, Moreira et al. (2020) assumem que os isolados de FTSC foram capazes de induzir giberela em níveis próximos quando comparados aos isolados de FGSC. A identificação dos isolados de FTSC indica a produção de micotoxinas tais como eniatina e beuvericina, ainda não regulamentadas na legislação brasileira.

Ainda assim, a ocorrência do complexo FTSC foi identificada em uma baixa frequência (<8%) nas lavouras de trigo no Paraná. As evidências da ampla diversidade de espécies de *Fusarium* sp. nessa região podem ser interpretadas pela ocorrência de patógenos oportunistas a uma frequência relativamente baixa. No complexo FTSC, destaca-se a espécie *F. avenaceum* e com base em estudos in vitro, esse grupo é produtor potencial das micotoxinas eniatina, beaveuricina e moniliformina (Pereira et al., 2020).

Considerações finais

A expansão da triticultura no Brasil, as mudanças climáticas, a variabilidade genética de espécies de *Fusarium* e a dinâmica da cadeia produtiva demandam um conhecimento aprofundado dos mecanismos envolvidos na produção de micotoxinas em trigo no Brasil. Os efeitos negativos das micotoxinas nos produtos oriundos do trigo podem ser mitigados com as boas práticas de manejo da giberela e cuidados em pós-colheita. Viabilizar soluções na produção de alimentos seguros abrange um estudo amplo sobre o universo das micotoxinas, entre as quais deve se destacar as emergentes, que afetam os cereais. Os fatores ecológicos ou sazonais que impulsionam flutuações de patógenos devem ser investigados a fim de rastrear possíveis micotoxinas emergentes que possam afetar a segurança alimentar de humanos e de animais.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 138, de 08 de fevereiro de 2017. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, para alterar os LMT da micotoxina deoxinivalenol (DON) em trigo e produtos de trigo prontos para oferta ao consumidor e os prazos para sua aplicação. **Diário Oficial da União**, seção 1, n. 29, p. 45, 09 fev. 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos. **Diário Oficial da União**, seção 1, n. 37, p. 72, 21 ago. 2011.

ASTOLFI, P.; REYNOSO, M. M.; RAMIREZ, M. L.; CHULZE, S. N.; ALVES, T. C. A.; TESSMANN, D. J.; DEL PONTE, E. M. Genetic population structure and trichothecene genotypes of *Fusarium graminearum* isolated from wheat in southern Brazil. **Plant Pathology**, v. 61, n. 2, p. 289-295, Apr. 2012. DOI 10.1111/j.1365-3059.2011.02515.x.

BOTTALICO, A.; PERRONE G. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. **European Journal of Plant Pathology**, v. 108, n. 7, p. 611-624, 2002. DOI 10.1023/A:1020635214971.

CALORI-DOMINGUES, M. A.; ALMEIDA, R. R. de; TOMIWAKA, M. M.; GALLO, C. R.; GLORIA, E. M. da; DIAS, C. T. S. Ocorrência de deoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.1, p. 181-185, jan./mar. 2007. DOI 10.1590/S0101-20612007000100032.

CHAMPEIL, A.; DORÉ, T.; FOURBET, J. F. *Fusarium* head blight: Epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains. **Plant science**, v. 166, n. 6, p. 1389-1415, Jun. 2004. DOI 10.1016/j.plantsci.2004.02.004.

CUSTÓDIO, F. B.; ANDRADE, P. D.; RIBEIRO, D. H. B. **Avaliação de risco da exposição humana ao deoxinivalenol (DON) pela dieta no Brasil**. Brasília: ANVISA, 2016. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3219534/Avalia%C3%A7%C3%A3o+de+risc+o+da+exposi%C3%A7%C3%A3o+humana+ao+deoxinivalenol+%28DON%29+pela+dieta+no+Brasil/4209eece-3fcf-46d9-a679-738851638147>. Acesso em: 9 nov. 2019.

DEL PONTE, E. M.; SPOLTI, P.; WARD, T. J.; GOMES, L. B.; NICOLLI, C. P.; KUHNEM, P. R.; SILVA, C. N.; TESSMANN, D. J. Regional and field-specific factors affect the composition of *Fusarium* head blight pathogens in subtropical no-till wheat agroecosystem of Brazil. **Phytopathology**, v. 105, n. 2, p. 246-254, Feb. 2015. DOI 10.1094/PHYTO-04-14-0102-R.

DEL PONTE, E. M.; TESSMANN, D. J.; SPOLTI, P.; KUHNEM, P. R.; DA SILVA, C. N. Species identification, genetic diversity and phenotypic variation studies on the *Fusarium graminearum* complex populations from Brazil. In: MAGLIANO, T. M. A.; CHULZE, S. N. (ed.). **Fusarium head blight in Latin America**. Dordrecht: Springer, 2013. p. 15-29.

DEL PONTE, E. M.; GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E. Deoxynivalenol and nivalenol in commercial wheat grain related to *Fusarium* head blight epidemics in

southern Brazil. **Food Chemistry**, v. 132, n. 2, p. 1087-1091, May 2012. DOI 10.1016/j.foodchem.2011.10.108.

DUFFECK, M. R.; TIBOLA, C. S.; GUARIENTI, E. M.; DEL PONTE, E. M. Survey of mycotoxins in Southern Brazilian wheat and evaluation of immunoassay methods. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 4, p. 343-348, Jul./Aug. 2017. DOI 10.1590/1678-992x-2016-0263.

GOMES, L. B.; WARD, T. J.; BADIALE-FURLONG, E.; DEL PONTE, E. M. Species composition, toxigenic potential and pathogenicity of *Fusarium graminearum* species complex isolates from southern Brazilian rice. **Plant Pathology**, v. 64, n. 4, p. 980-987, Aug. 2015. DOI 10.1111/ppa.1233.

GUARIENTI, E. M.; MIRANDA, M. Z. de.; CUNHA, G. R. da.; NICOLAU, M.; TIBOLA, C. S.; FORCELLINI, S.; VIEIRA, D. C. da C.; LIMA, M. V. de. **Qualidade tecnológica de trigo colhido e armazenado no Brasil safras 2015/2016 e 2016/2017**. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 2018. 93 p. (Embrapa Trigo. Documentos online, 178). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/178390/1/ID44342-2018DO178.pdf>. Acesso em: 9 nov. 2019.

KUHNEM, P. R.; DEL PONTE, E. M.; DONG, Y.; BERGSTROM, G. C. *Fusarium graminearum* isolates from wheat and maize in New York show similar range of aggressiveness and toxigenicity in cross-species pathogenicity tests. **Phytopathology**, v. 105, n. 4, p. 441-448, 2015. DOI 10.1094/PHYTO-07-14-0208-R.

KUHNEM, P. R.; WARD, T. J.; SILVA, C. N.; SPOLTI, P.; CILIATO, M. L.; TESSMANN, D. J.; DEL PONTE, E. M. Composition and toxigenic potential of the *Fusarium graminearum* species complex from maize ears, stalks and stubble in Brazil. **Plant Pathology**, v. 65, n. 7, p. 1185-1191, Sept. 2016. DOI 10.1111/ppa.12497.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The Fusarium laboratory manual**. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing, 2006. 388 p.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; MALLMANN, A. O.; OLIVEIRA, M. S.; ADANIYA, Z. N. C.; TONINI, C. Prevalence and levels of deoxynivalenol and zearalenone in commercial barley and wheat grain produced in Southern Brazil: an eight-year (2008 to 2015) summary. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 3, p. 146-152, May 2017. DOI 10.1007/s40858-017-0152-6.

MENDES, G. da R. L.; REIS, T. A. dos; CORRÊA, B.; BADIALE-FURLONG, E. Mycobiota and occurrence of Fumonisin B1 in wheat harvested in Southern Brazil. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p.1050-1057, June, 2015. DOI 10.1590/0103-8478cr20140005.

MOREIRA, G. M.; MACHADO, F. J.; PEREIRA, C. B.; NEVES, D. L.; TESSMANN, D. J.; WARD, T. J.; DEL PONTE, E. M. First report of the *Fusarium tricinctum* species complex

causing Fusarium head blight of wheat in Brazil. **Plant Disease**, v. 104, n. 2, Feb. 2020. DOI 10.1094/PDIS-03-19-0552-PDN.

MORETTI, A.; PASCALE, M.; LOGRIECO, A. F. Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe. **Trends in Food Science & Technology**, v. 84, p. 38-40, Feb. 2019. DOI 10.1016/j.tifs.2018.03.008.

O'DONNELL, K.; KISTLER, H. C.; TACKE, B. K.; CASPER, H. H. Gene genealogies reveal global phylogeographic structure and reproductive isolation among lineages of *Fusarium graminearum*, the fungus causing wheat scab. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 14, p. 7905-7910, Aug. 2000a. DOI 10.1073/pnas.130193297.

O'DONNELL, K.; NIRENBERG, H. I.; AOKI, T.; CIGELNIK, E. A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: Detection of additional phylogenetically distinct species. **Mycoscience**, v. 41, n. 1, p. 61-78, 2000b. DOI 10.1007/BF02464387.

O'DONNELL, K.; WARD, T. J.; ABERRA, D.; KISTLER, H. C.; AOKI, T.; ORWIG, N.; KIMURA, M.; BJØRNSTAD, S.; KLEMSDAL, S. S. Multilocus genotyping and molecular phylogenetics resolve a novel head blight pathogen within the *Fusarium graminearum* species complex from Ethiopia. **Fungal Genetics and Biology**, v. 45, n. 11, p. 1514-1522, Nov. 2008. DOI 10.1016/j.fgb.2008.09.002.

O'DONNELL, K.; WARD, T. J.; GEISER, D. M.; KISTLER, H. C.; AOKI, T. Genealogical concordance between the mating type locus and seven other nuclear genes support formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade. **Fungal Genetics and Biology**, v. 41, n. 6, p. 600-623, June 2004. DOI 10.1016/j.fgb.2004.03.003.

O'DONNELL, K.; WARD, T. J.; ROBERT, V. A. R. G.; CROUS, P. W.; GEISER, D. M.; KANG, S. DNA sequence-based identification of *Fusarium*: current status and future directions. **Phytoparasitica**, v. 43, n. 5, p. 583-595, Sept. 2015. DOI 10.1007/s12600-015-0484-z.

PATERSON, R. R. M.; LIMA, N. Further mycotoxin effects from climate change. **Food Research International**, v. 44, n. 9, p. 2555-2566, May 2011. DOI 10.1016/j.foodres.2011.05.038.

PEREIRA, C. B.; WARD, T. J.; DEL PONTE, E. M.; MOREIRA, G. M.; BUSMAN, M.; MCCORMICK, S.; FEKSA, H. R.; TESSMANN, D. J. Five-year survey uncovers extensive diversity and temporal fluctuations among *Fusarium* Head Blight pathogens of wheat and barley in Brazil. **OSF Preprints**, April 2020. DOI 10.31219/osf.io/psbg8.

SARVER, B. A. J.; WARD, T. J.; GALE, L. R.; BROZ, K.; KISTLER, H. C.; AOKI, T.; NICHOLSON, P.; CARTER, J.; O'DONNELL, K. Novel *Fusarium* head blight pathogens from Nepal and Louisiana revealed by multilocus genealogical concordance. **Fungal Genetics and Biology**, v. 48, n. 12, p. 1096-1107, Dec. 2011. DOI 10.1016/j.fgb.2011.09.002.

SAVI, G. D.; PIACENTINI, K. C.; TIBOLA, C. S.; SCUSSEL, V. M. Mycoflora and deoxynivalenol in whole wheat grains (*Triticum aestivum* L.) from Southern Brazil. **Food Additives & Contaminants: Part B: Surveillance**, v. 7, n. 3, p. 232-237, 2014. DOI 10.1080/19393210.2014.898337.

SCOZ, L. B.; ASTOLFI, P.; REARTES, D. S.; SCHMALE III, D. G.; MORAES, M. G.; DEL PONTE, E. M. Trichothecene mycotoxin genotypes of *Fusarium graminearum* sensu stricto and *Fusarium meridionale* in wheat from southern Brazil. **Plant Pathology**, v. 58, n. 2, p. 344-351, March 2009. DOI 10.1111/j.1365-3059.2008.01949.x.

SILVA, C. L.; BENIN, G.; ROSA, A. C.; BECHE, E.; BORNHOFEN, E.; CAPELIN, M. A. Monitoring levels of deoxynivalenol in wheat flour of Brazilian varieties. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 75, n. 1, p. 50-56, March 2015. DOI 10.4067/S0718-58392015000100007.

SPOLTI, P.; BARROS, N. C.; GOMES, L. B.; DOS SANTOS, J.; DEL PONTE, E. M. Phenotypic and pathogenic traits of two species of the *Fusarium graminearum* complex possessing either 15-ADON or NIV genotype. **European Journal of Plant Pathology**, v. 133, n. 3, p. 621-629, Jan. 2012. DOI 10.1007/s10658-012-9940-5.

STARKEY, D. E.; WARD, T. J.; AOKI, T.; GALE, L. R.; KISTLER, H. C.; GEISER, D. M.; SUGA, H.; TÓTH, B.; VARGA, J.; O'DONNELL, K. Global molecular surveillance reveals novel *Fusarium* head blight species and trichothecene toxin diversity. **Fungal Genetics and Biology**, v. 44, n. 11, p. 1191-1204, Nov. 2007. DOI 10.1016/j.fgb.2007.03.001.

TESSMANN, E. W.; VAN SANFORD, D. A. GWAS for *Fusarium* head blight related traits in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) in an artificially warmed treatment. **Agronomy**, v. 8, n. 5, p. 68, May 2018. DOI 10.3390/agronomy8050068.

TIBOLA, C. S.; FERNANDES, J. M. C.; DEL PONTE, E. M.; MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; LIMA, M. I. P. M.; PAVAN, W. **Indicações técnicas para minimizar a contaminação de trigo por micotoxinas**. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 2013. 34 p. (Embrapa Trigo. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 11). Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/126296/1/ID-42929-FL-08526.pdf>. Acesso em: 9 ago. 2020.

TRALAMAZZA, S. M.; BEMVENUTI, R. H.; ZORZETE, P.; GARCIA, F. S.; CORRÊA, B. Fungal diversity and natural occurrence of deoxynivalenol and zearalenone in freshly harvested

wheat grains from Brazil. **Food Chemistry**, v. 196, p. 445-450, Sept. 2015. DOI 10.1016/j.foodchem.2015.09.063.

VAUGHAN, M.; BACKHOUSE, D.; DEL PONTE, E. M. Climate change impacts on the ecology of *Fusarium graminearum* species complex and susceptibility of wheat to *Fusarium* head blight: a review. **World Mycotoxin Journal**, v. 9, n. 5, p. 685-700, Sept. 2016. DOI 10.3920/WMJ2016.2053.

VUJANOVIC, V.; GOH, Y. K.; DAIDA, P. Heat-and cold-shock responses in *Fusarium graminearum* 3 acetyl-and 15 acetyl-deoxynivalenol chemotypes. **The Journal of Microbiology**, v. 50, n. 1, p. 97-102, Feb. 2012. DOI 0.1007/s12275-012-1381-5.

XU, X. M.; NICHOLSON, P.; THOMSETT, M. A.; SIMPSON, D.; COOKE, B. M.; DOOHAN, F. M.; BRENNAN, J.; MONAGHAN, S.; MORETTI, A.; MULE, G.; HORNOK, L.; BEKI, E.; TATNELL, J.; RITIENI, A.; EDWARDS, S. G. Relationship between the fungal complex causing *Fusarium* head blight of wheat and environmental conditions. **Phytopathology**, v. 98, n. 1, p. 69-78, Jan. 2008. DOI 10.1094/PHYTO-98-1-0069.

YLI-MATTILA, T.; GAGKAEVA, T.; WARD, T. J.; AOKI, T.; KISTLER, H. C.; O'DONNELL, K. A novel Asian clade within the *Fusarium graminearum* species complex includes a newly discovered cereal head blight pathogen from the Russian Far East. **Mycologia**, v. 101, n. 6, p. 841-852, Nov./Dez. 2009. DOI 10.3852/08-217.

ZHANG, X.; HALDER, J.; WHITE, R. P.; HUGHES, D. J.; YE, Z.; WANG, C.; XU, R.; GAN, B.; FITT, B. D. L. Climate change increases risk of *Fusarium* ear blight on wheat in central China. **Annals of Applied Biology**, v. 164, n. 3, p. 384-395, May 2014. DOI 10.1111/aab.12107.

Introdução

No que diz respeito à garantia da comercialização de trigo, de acordo com as especificações da legislação e à viabilização da produção de alimentos seguros para os consumidores, é fundamental que pesquisas se concentrem na busca de medidas de controle que minimizem o risco de contaminação de grãos com micotoxinas. Dessa forma, o desenvolvimento de cultivares de trigo com resistência genética à giberela, o manejo cultural, pela escolha de época e locais menos favoráveis à doença e o controle químico, realizado pela aplicação de fungicidas efetivos no controle da doença e na redução dos níveis de micotoxinas, são práticas fundamentais.

Melhoramento genético – cultivares

Assim como ocorre em outras culturas, no patossistema giberela-trigo uma das primeiras medidas a ser adotada para controle da doença é o desenvolvimento de cultivares resistentes. Nessa linha, os projetos de melhoramento têm fomentado, de forma incessante, a busca de novos genes de resistência a doenças. Na giberela do trigo, o principal gene associado à resistência é *Fhb1*, sendo parte importante dos programas de trigo no mundo (Scheeren et al., 2016; Su et al., 2018; Li et al., 2019; Zhu et al., 2019).

Na Embrapa Trigo, diversos experimentos são realizados anualmente com o objetivo de identificar fontes de resistência à giberela do trigo. Na Tabela 1, uma seleção de 48 cultivares do banco de germoplasma da Embrapa demonstrou, em ensaios de campo, reações à giberela que vão desde suscetibilidade até resistência.

Tabela 1. Reação à giberela de cultivares de trigo avaliadas em ensaios de campo, na Embrapa Trigo, por três anos consecutivos (2011, 2012 e 2013).

Cultivar	Nota	Cultivar	Nota	Cultivar	Nota	Cultivar	Nota
Colonista	R	Patriarca	R	Karamu	M	Ias 20	M
Sumai 3	R	BRS 179	R	Siete Cerros	M	Embrapa 22	M
Nyubay	R	Abura Komugui	R	Jans	M	Morocco	M
Nobeoka Bozu	R	BRS 209	R	Iac 24	M	Har 604	M
Gw 3	R	Peking 8	R	Londrina	M	Maiten Inia	M
Chinese spring	R	Itapua 25	R	Ruminahui	M	Karin	M
Wuhan 3	R	Toropi	R	CNT 10	M	Embrapa 10	M
Transfer	R	BRS177	R	Agatha	M	Feng mai 11	S
Peladinho	R	Saikai 165	R	BRS 208	M	Pampeano Inta	S
Klein Lucero	R	Shanghai	R	BRS 207	M	Bezostaja 1	S
BRS Guamirim	R	BR 23	M	Ipr 85	M	Embrapa 42	S
Safira	R	BR 33	M	Castico	M	Gigas 1381	S

Nota: R = resistente; M = moderadamente resistente; S = suscetível.

Quando se selecionam materiais resistentes à giberela, indiretamente, podem ser selecionadas fontes de resistência a deoxinivalenol (DON). Entretanto, nem sempre há uma correlação consistente entre a severidade e incidência de giberela e os níveis de DON. Cultivares com bons níveis de resistência à doença não necessariamente são resistentes à produção de micotoxinas. Isso pode ocorrer em função dos diferentes tipos de resistência à giberela: Tipo I: resistência à infecção inicial do patógeno na espiga (incidência); Tipo II: resistência à colonização da ráquis e espiguetas (severidade); Tipo III: resistência dos grãos à infecção (mesmo que a espiga esteja infectada); Tipo IV: tolerância (menor perda de produtividade, mesmo com elevada infecção); Tipo V: redução do acúmulo de DON nos grãos Mesterhazy (1995). Outra possibilidade é que a baixa correlação se deva ao momento em que ocorre a infecção no campo. Infecções tardias podem passar despercebidas em relação aos sintomas (em função de ausência de tempo hábil para desenvolvimento dos mesmos), mas, ainda assim, acumular micotoxinas.

Apesar disso, poucos trabalhos têm sido realizados para avaliar a resistência de cultivares especificamente ao DON (Tipo V). Experimento realizado em 2014, para avaliação das resistências tipo I (resistência à infecção inicial) e Tipo II (resistência à colonização), mostraram uma clara resposta diferencial entre cultivares. Ao comparar as cultivares BRS 208, BRS 177, Pampeano e Mirante, observou-se que as

cultivares Pampeano e BRS 177 não apresentaram resistência do Tipo I à giberela. Porém, apresentam resistência do Tipo II, enquanto que os cultivares Mirante e BRS 208 não apresentam nenhum dos dois tipos de resistência (Deuner et al., 2015).

O fato de uma cultivar de trigo com bons níveis de resistência à giberela não apresentar necessariamente resistência à DON pode ocorrer em função destas duas características serem governadas por uma combinação genética que não necessariamente é a mesma. A resistência à doença é do tipo horizontal, ou seja, é controlada por um conjunto de genes. Em estudo de população duplo haploide derivada do cruzamento entre as cultivares Wuhan e Nyubai, demonstrou-se que QTLs localizados nos cromossomos 2DS e 5DS foram associados ao menor acúmulo de DON, mas não à resistência à doença. Por outro lado, o gene *Fhb1*, localizado no cromossomo 3B, inicialmente descoberto na cultivar Sumai 3, é, atualmente, o gene mais conhecido para resistência à giberela, sendo também efetivo para detoxificar a micotoxina nas cultivares que o carregam (Gunupuru et al., 2017).

O mapeamento de QTL de resistência ao FHB deve, além de características relacionadas ao fungo, como incidência, disseminação, severidade, nível de toxinas e biomassa, avaliar cuidadosamente características morfológicas e fenológicas - particularmente altura da planta, extrusão de anteras e data de floração - para detectar características dependentes e obter uma melhor compreensão da complexa natureza da resistência ao FHB (Buerstmayr et al., 2020).

Práticas de manejo cultural

O manejo cultural para controle de giberela envolve diversas práticas, tais como: a escolha de cultivares com bons níveis de resistência à giberela, escolha de épocas de semeadura menos favoráveis à ocorrência da doença, escalonamento de semeadura a fim de evitar que todo o florescimento coincida com períodos de maior predisposição, uso de cultivares com diferentes ciclos (escape), rotação de culturas, dentre outros.

No entanto, existem algumas limitações, como por exemplo, o fato de que a grande maioria das cultivares não apresenta níveis de resistência a giberela satisfatórios, capazes de impedir a ocorrência da doença em condições favoráveis ao desenvolvimento do fungo. Dos 119 cultivares de trigo indicados para cultivo no Brasil (Reunião..., 2019), somente 30% são moderadamente resistentes (MR) à giberela.

Notou-se um incremento significativo na importância da giberela após a adoção do sistema de plantio direto, já que as práticas conservacionistas do solo auxiliam na manutenção dos restos culturais e, com eles, do patógeno. No caso de giberela, a rotação de culturas pode ser pouco efetiva para controle, visto que o patógeno sobrevive em restos culturais não só de trigo, mas também de aveia, arroz, cevada, centeio, milho, sorgo, soja, papuã e milhã (Reis, 1990; Fernandez; Fernandes, 1990). O grande número de plantas hospedeiras, incluindo plantas daninhas, bem como, a capacidade de sobrevivência do patógeno em restos culturais, garante a disponibilidade de inóculo no ar e a perpetuação do patógeno entre as safras.

Ainda assim, a adoção da rotação de culturas não deve ser subestimada como prática de manejo (Del Ponte et al., 2004). Trabalhos realizados nos EUA por Dill-Macky; Jones (2000) evidenciaram maior incidência de giberela no sistema trigo – milho do que em relação ao sistema trigo – soja. Outro ponto a ser considerado é a prática de monocultura de trigo sobre trigo. Esta contribui para aumento do inóculo de giberela, mas também de manchas foliares no trigo.

A fim de minimizar os impactos causados por giberela, a escolha da época, bem como, o escalonamento de semeadura são estratégias importantes. Estas práticas aumentam a probabilidade de escape a períodos de maior pressão de inóculo da doença (Santana et al., 2019). Para o manejo integrado de giberela e redução dos níveis de micotoxinas nos grãos é recomendado o uso de cultivares com maior grau de resistência, aplicação de fungicidas eficientes e o ajuste dos mecanismos da colheita mecânica para a eliminação de grãos giberelados. Em análise de dados produzidos em mais de 40 ensaios de giberela, foi demonstrado que a redução de danos, quando foram utilizadas cultivares com bons níveis de resistência, associadas a aplicação de fungicidas, foi de até 76% de controle da doença e 71% de redução do nível de DON, em relação as parcelas sem aplicação de fungicidas McMullen et al. (2012). Associado a essas duas estratégias, o ajuste na colhedora pode reduzir o número de grãos giberelados, considerando que esses grãos doentes são menores e mais leves que os grãos sadios. Assim, a redução de grãos giberelados foi reduzida drasticamente quando se aumentou a velocidade do ar, para separar os grãos giberados dos grãos sadios (Salgado et al., 2011).

Manejo químico – fungicidas

Atualmente, uma das principais medidas de controle para a giberela do trigo é a utilização de fungicidas. Entretanto, existem relatos de falhas e/ou ineficiência de controle da doença, que podem acontecer, basicamente por dois motivos: o fungicida não atinge o alvo adequadamente (em função de aplicações realizadas fora do momento correto ou do uso de tecnologia de aplicação inadequada), ou o patógeno possui algum nível de insensibilidade ao princípio ativo utilizado.

Dados de literatura demonstram que os princípios ativos mais utilizados nas formulações dos fungicidas registrados para giberela são efetivos no controle da germinação de esporos e crescimento micelial em testes *in vitro* (Avozani et al., 2014). Entretanto, ainda é um desafio para o controle químico de giberela em lavouras o atingimento dos sítios de infecção (antras) pelos fungicidas. Toda a tecnologia de aplicação foi desenvolvida para doenças foliares, em consequência, a espiga, por estar em posição vertical, acaba sendo um alvo mais difícil de ser atingido por completo. Assim, estima-se que a eficácia do controle no campo seja, no máximo, em torno de 70% a 80% (Del Ponte et al., 2004). O controle de giberela com fungicidas precisa ser preventivo. Depois do aparecimento dos sintomas não há como controlá-la. Resultados indicam que duas aplicações de fungicida, sendo a primeira realizada entre 25% a 50% de florescimento e a segunda aplicação de 7 a 10 dias após a primeira, seriam ideais para o controle (Santana et. al., 2014).

No entanto, sob condições favoráveis à ocorrência da doença (período de molhamento acima de 30 horas e temperaturas médias em torno de 20 °C-25 °C), mesmo antes da extrusão das antras, pode ocorrer a infecção. Em ensaios conduzidos sob condições controladas, Lima (2003) observou que espigas de uma cultivar suscetível inoculadas com o fungo apresentaram sintomas a partir da emergência completa da espiga (sem antras extrusadas) e foram suscetíveis até 15 dias após o florescimento. Sendo assim, sob condições de alta favorabilidade, a aplicação de fungicidas com foco em giberela pode ser antecipada, a fim de evitar a infecção pelo fungo.

Outro aspecto que deve ser levado em consideração no momento das aplicações de fungicida diz respeito a quais grupos químicos e quais os melhores princípios ativos para o controle de giberela. Com o objetivo de verificar a efetividade dos principais princípios ativos para o controle de giberela, foi criada em 2010 uma rede de ensaios

cooperativos, cujos protocolos de pesquisa padronizados, são adotados por diversas instituições parceiras. Através destes resultados, são feitas publicações na forma de “comunicados técnicos”, que podem ser acessados no endereço: <http://www.ensaios-cooperativos.net/>.

Os ensaios de avaliação de fungicidas em rede têm como base experimentos ou parcelas com trigo semeado na época preferencial de cada região. A partir de um protocolo de implantação e tratamentos (padronização no tamanho das parcelas, número de aplicações, cultivares e outras variáveis dos experimentos), estabelecidos em comum acordo entre os participantes, são avaliados fungicidas disponíveis no mercado ou em fase de validação, além de estratégias de manejo mais eficientes. Além da maior confiabilidade dos resultados, a partir de informações mais próximas à realidade do campo, os protocolos permitem a integração das ações de controle associado ao conhecimento de cada técnico ou agricultor na sua região de atuação.

Embora entre anos e entre locais de avaliação haja diferenças no desempenho de fungicidas para controle de giberela, os estudos têm indicado que alguns grupos químicos possuem fundamental importância. No caso da giberela, a presença de triazóis é importante para o controle de giberela e redução nos níveis de DON. Os ingredientes ativos metconazol, prothioconazol e tebuconazol em associações, têm apresentado bom desempenho ao longo dos anos dos ensaios cooperativos. Os reforços com benzimidazol também apresentam bons resultados de controle (Ensaio Cooperativo para o Controle Químico de Giberela – dados não publicados).

Nos Estados Unidos, uma meta-análise de dados de ensaios para controle de giberela, obtidos em mais de 100 experimentos, realizados por 11 anos de estudo, evidenciou um controle superior por prothioconazol + tebuconazol, metconazol e prothioconazol, cuja porcentagem de controle, medida pelo índice de giberela, foi, respectivamente, de 52%, 50% e 48%. Dentre os fungicidas avaliados, o mais eficaz na redução de DON foi metconazol, que chegou a 45% de redução, superando em 22% o controle obtido por tebuconazol, que reduziu o DON em 23% (Paul et al., 2008). No Brasil, a rede de ensaios cooperativos tem demonstrado níveis de controle superiores, sendo estes de 50% de controle, ou mais (Machado et al., 2017). Os resultados em relação aos ativos mais eficientes corroboram com aqueles obtidos por outros autores, como Butrinowski (2015) que, ao testar o fungicida piraclostrobina + metconazol, observou redução da incidência de giberela de 100% para 63,3%. Os reforços nas aplicações do florescimento com tebuconazole ou carbendazim e o uso de piraclostrobina + metconazol, apresentaram resultados consistentes de controle e redução de DON em

outras safras (Wesp-Guterres et al., 2016a, 2016b). Estes resultados corroboram com os dados de Cromey et al. (2001), Blandino; Reyneri (2009) e Baturo-Cieśniewska et al. (2011), em que os tratamentos contendo metconazol ou carbendazim, contribuíram para redução significativa dos níveis de giberela e de micotoxinas no campo.

Há diversos relatos na literatura de que o uso de alguns fungicidas pode, em determinadas condições, estimular a produção de micotoxinas. Por exemplo, o uso isolado de estrobilurinas geralmente não é indicado para o controle de giberela, visto que alguns estudos demonstram que estas podem estar associadas com níveis elevados de DON em cereais. Embora outros estudos demonstrem não haver aumento no acúmulo de DON, em função do uso de estrobilurina (Pirgozliev et al., 2002), o ideal é que o uso seja feito sempre em misturas com triazóis (Blandino; Reyneri, 2009), especialmente pelo já conhecido maior risco ocorrência de fitopatógenos resistentes a esse grupo de fungicidas (Vincelli, 2002).

Apesar do efeito positivo e consistente de aplicações de benzimidazóis ou triazóis no florescimento para controle de giberela e redução nos níveis de DON, o uso isolado de apenas um grupo químico para controle de *Fusarium* não deve ser visto como alternativa. Em países como a China, onde epidemias de giberela são frequentes, o carbendazim, utilizado desde 1970 para controle da doença, já perdeu sua eficiência, atuando inclusive, como fator de elevação dos níveis de DON (Chen, 2016). Em estudo realizado entre os anos de 2011 e 2014 na região de Guarapuava, no Paraná, a fim de avaliar a sensibilidade de 35 isolados de *Fusarium* aos fungicidas tebuconazol e carbendazim (in vitro), foram encontrados dois isolados menos sensíveis ao tebuconazol e seis ao carbendazim, sugerindo que a seleção de populações resistentes a estes princípios ativos pode estar ocorrendo também no Brasil, o que deve impactar no manejo futuro da doença (Machado et al., 2016).

Em outra abordagem semelhante, em experimento realizado na Embrapa Trigo no ano de 2014, foi demonstrada a diferença entre dois isolados de *Fusarium graminearum* (um do Paraná e outro do Rio Grande do Sul) quanto à sensibilidade a dois princípios ativos, pertencentes aos principais grupos de fungicidas da atualidade (estrobilurina e triazol). Neste experimento foi observada uma menor sensibilidade aos fungicidas, tanto no teste de germinação de esporos, quanto de crescimento micelial, do isolado coletado no Paraná, em relação ao isolado do Rio Grande do Sul (Tabela 2). Embora tenham sido confrontados apenas dois isolados, este experimento demonstra a necessidade de avaliações “in loco” dos fungicidas registrados ou em fase de registro, para o controle de giberela em trigo.

Tabela 2. Teste de sensibilidade a fungicidas do grupo dos triazóis e estrobilurinas, aplicados em meia dose, dose normal e o dobro da dose, em isolados de *Fusarium graminearum* coletados em Maringá, PR e Passo Fundo, RS.

Fungicida - isolado fungo	Dose	% Germinação	Diâmetro (mm)
Propiconazole Isolado Passo Fundo	½	0	0
	1	0	0
	2	0	0
Propiconazole Isolado Arapuá, PR	½	82	0
	1	85	0
	2	77	0
Azoxistrobina Isolado Passo Fundo	½	98	40
	1	91	37
	2	16	44
Azoxistrobina Isolado Arapuá, PR	½	95	46
	1	93	43
	2	88	61
Controle Fusarium Passo Fundo		98	72
Controle Fusarium Arapuá, PR		90	85

Aplicações de fungicidas são de fundamental importância para controle de giberela. No entanto, devem ser associadas outras práticas a fim de minimizar as perdas causadas pela doença e prevenir a resistência dos fitopatógenos. A escolha de cultivares com bons níveis de resistência, a semeadura em épocas menos favoráveis à ocorrência da doença e a rotação com espécies não hospedeiras, são práticas que auxiliam a reduzir a ocorrência da doença, bem como, seus impactos negativos na produtividade e na qualidade de grãos de trigo.

Considerações finais

No mundo, a giberela é uma doença de difícil controle. Considerando as três estratégias de controle disponíveis, manejo cultural, cultivares resistentes e aplicação de fungicidas, ainda não é possível obter o controle plenamente eficaz da doença. Os genes de resistência não conferem resistência completa à doença; o manejo cultural é dificultado pela presença de esporos no ar, que necessitam apenas de condições meteorológicas adequadas para infectar o hospedeiro; e o controle químico tem uma barreira física que é a conformação das espigas, alvo do patógeno, que

o torna menos eficiente. Diferentemente de uma folha infectada, alvo de outras doenças, a forma da espiga dificulta o pleno recobrimento e proteção do tecido vegetal contra a infecção e colonização pelos esporos de *Fusarium*. Entretanto, apesar das dificuldades, muitos avanços têm sido alcançados, no combate à giberela. O escape evitando que a floração, período de maior suscetibilidade à infecção, coincida com condições climáticas favoráveis, tem se mostrado efetiva. Genes de resistência têm sido dissecados e introgrididos de forma eficiente, em linhagens elite, com geração de cultivares com bons níveis de resistência à doença e/ou ao acúmulo de DON. Por fim, novas formulações de fungicidas, aplicados no momento mais adequado, observando a predisposição à doença, seja pelo clima ou pela cultivar, tem se mostrado eficientes na redução expressiva da giberela. O que fica claro é que, devido à complexidade da doença, as três estratégias citadas acima devem ser aplicadas de forma conjunta, com o objetivo de obter um controle eficiente e plenamente satisfatório da giberela do trigo.

Referências

- AVOZANI, A.; TONIN, R. B.; REIS, E. M.; CAMERA, J.; RANZI, C. In vitro sensitivity of *Fusarium graminearum* isolates to fungicides. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n.3, p. 231-247, July 2014. DOI 10.1590/0100-5405/1891.
- BATURO-CIEŚNIEWSKA, A.; LUKANOWSKI, A.; KOLENDA, M. Effect of fungicide application on Wheat Head Blight, occurrence of *Fusarium* spp. and mycotoxin production. **Plant Breeding and Seed Science**, v. 63, n. 1, p. 29-38, Jan. 2011. DOI 10.2478/v10129-011-0013-2.
- BLANDINO, M.; REYNERI, A. Effect of fungicide and foliar fertilizer application to winter wheat at anthesis on flag leaf senescence, grain yield, flour bread-making quality and DON contamination. **European Journal of Agronomy**, v. 30, n. 4, p. 275-282, May 2009. DOI 10.1016/j.eja.2008.12.005.
- BUERSTMAYR, M., STEINER, B., BUERSTMAYR, H. Breeding for *Fusarium* head blight resistance in wheat - Progress and challenges. **Plant Breeding**, v. 139, n. 3, p. 429-454, 2020. DOI 10.1111/pbr.12797.
- BUTRINOWSKI, R. T. **Novas tecnologias para o controle da giberela do trigo na safra 2014 no sudoeste do Paraná**. 2015. 49 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Pato Branco, 2015.

- CHEN, P. Improvement of wheat fusarium head blight (FHB) resistance in China. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FUSARIUM HEAD BLIGHT, 5.; INTERNATIONAL WORKSHOP ON WHEAT BLAST, 2., 2016, Florianópolis, SC. **Book of Abstracts...** Passo Fundo: Editora Universidade de Passo Fundo, 2016. p. 18. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/144841/1/ID43674-2016LV-ISFHB.pdf>. Acesso em: 3 Set. 2016.
- CROMEY, M. G; LAUREN, D. R.; PARKES, R. A.; SINCLAIR, K. I.; SHORTER, S. C.; WALLACE, A. R. Control of Fusarium head blight of wheat with fungicides. **Australasian Plant Pathology**, v. 30, n. 4, p. 301-308, Dec. 2001. DOI 10.1071/AP01065.
- DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PIEROBOM, C. R.; BERGSTROM, G. C. Giberela do trigo: aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 587-605, dez. 2004.
- DEUNER, C. C.; VIANA, E.; CAMERA, J. N.; REIS, E. M. Resistência de cultivares de trigo à giberela mediante inoculação artificial em espiguetas. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 202-206, Sept. 2015. DOI 10.1590/0100-5405/1994.
- DILL-MACKY, R.; JONES, R. K. The effect of previous crop residues and tillage on Fusarium head blight of wheat. **Plant Disease**, v. 84, n.1, p. 71-76, Jan. 2000. DOI 10.1094/PDIS.2000.84.1.71.
- FERNANDEZ, M. R.; FERNANDES, J. M. C. Survival of wheat pathogens in wheat and soybean residues under conservation tillage systems in southern and central Brazil. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v.12, n. 3, p. 289-294, Sept. 1990. DOI 10.1080/07060669009501002.
- GUNUPURU, L. R.; PEROCHON, A.; DOOHAN, F. M. Deoxynivalenol resistance as a component of FHB resistance. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, p. 175-183, Mar. 2017. DOI 10.1007/s40858-017-0147-3.
- LI, T.; ZHANG, H.; HUANG, Y.; SU, Z.; DENG, Y.; LIU, H.; MAI, C.; YU, G.; LI, H.; YU, L.; ZHU, T.; YANG, L.; LI, H.; ZHOU, Y. Effects of the Fhb1 gene on Fusarium head blight resistance and agronomic traits of winter wheat. **The Crop Journal**, v. 7, n. 6, p. 799-808, Dec. 2019. DOI 10.1016/j.cj.2019.03.005.
- LIMA, M. I. P. M. Estádios de suscetibilidade de espigas de trigo à giberela. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 296, 2003. Suplemento.
- MACHADO, F. J.; ARRUDA, R.; GRUPPI, G. P.; SILVA, C. N.; TESSMANN, D. J.; MIZUBUTI, E. S. G.; DEL PONTE, E. M. Sensitivity to tebuconazole and carbendazim for a *Fusarium graminearum* species complex population causing fusarium head blight of wheat in Southern

Paraná, Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FUSARIUM HEAD BLIGHT, 5.; INTERNATIONAL WORKSHOP ON WHEAT BLAST, 2., 2016, Florianópolis, SC. **Book of Abstracts...** Passo Fundo: Editora Universidade de Passo Fundo, 2016. p. 95. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/144841/1/ID43674-2016LV-ISFHB.pdf>. Acesso em: 3 set. 2016.

MACHADO, F. J.; SANTANA, F. M.; LAU, D.; DEL PONTE, E. M. Quantitative review of the effects of triazole and benzimidazole fungicides on fusarium head blight and wheat yield in Brazil. **Plant Disease**, v. 101, n. 9, p. 1633-1641, Sept. 2017. DOI 10.1094/PDIS-03-17-0340-RE.

McMULLEN, M.; BERGSTROM, G.; WOLF, E. de; DILL-MACKY, R.; HERSHMAN, D.; SHANER, G.; VAN SANFORD, D. A unified effort to fight an enemy of wheat and barley: Fusarium Head Blight. **Plant Disease**, v. 96, n. 12, p. 1712-1728, Dec. 2012. DOI 10.1094/PDIS-03-12-0291-FE.

MESTERHÁZY, A. Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. **Plant Breeding**, v. 114, n. 5, p. 377-386, Oct.1995. DOI 10.1111/j.1439-0523.1995.tb00816.x.

PAUL, P. A.; LIPPS, P. E.; HERSHMAN, D. E.; MCMULLEN, M. P.; DRAPER, M. A.; MADDEN, L. V. Efficacy of triazole-based fungicides for Fusarium head blight and deoxynivalenol control in wheat: a multivariate meta-analysis. **Phytopathology**, v. 98, n. 9, p. 999–1011, Sept. 2008. DOI 10.1094/PHYTO-98-9-0999.

PIRGOZLIEV, S. R.; EDWARDS, S. G.; HARE, M. C.; JENKINSON, P. Effect of dose rate of azoxystrobin and metconazole on the development of Fusarium head blight and the accumulation of deoxynivalenol (DON) in wheat grain. **European Journal of Plant Pathology**, v. 108, n. 5, p. 469-478, June 2002. DOI 10.1023/A:1016010812514.

REIS, E. M. Perithecial formation of *Gibberella zeae* on senescent stems of grasses under natural conditions. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 52-54, 1990.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 12., 2018, Passo Fundo. **Informações técnicas para trigo e triticale-Safra 2019**. Brasília, DF: Embrapa, 2018. 240p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/196239/1/ID44570-2018InfTecTrigoTriticale2019.pdf>. Acesso em: 3 set. 2020.

SALGADO, J. D.; WALLHEAD, M.; MADDEN, L. V.; PAUL P. A. Grain harvesting strategies to minimize grain quality losses due to Fusarium head blight in wheat. **Plant Disease**, v. 95, n. 11, p. 1448-1457, Nov. 2011. DOI 10.1094/PDIS-04-11-0309.

SANTANA, F. M.; LAU, D.; CARGNIN, A.; SEIXAS, C. D. S.; SCHIPANSKI, C. A.; FEKSA, H. R.; WESP, C.; BLUM, M.; BASSOI, M. C. **Eficiência de fungicidas para controle de**

giberela em trigo: resultados dos ensaios cooperativos - Safra 2012. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2014. 10 p. html. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico online, 336). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/103787/1/2014-comunicado-tecnico-online336.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2019.

SANTANA, F. M.; LAU, D.; SBALCHEIRO, C. C.; GUTERRES, C. W.; VENÂNCIO, W. S.; SEIXAS, C. D. S.; NICOLAU, M. **Eficiência de fungicidas para controle de giberela do trigo: resultados dos Ensaios Cooperativos - Safra 2016.** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2019. 16 p. (Embrapa Trigo. Circular Técnica online, 39). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/207736/1/CirTec39-Flavio-Santana.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2019.

SCHEEREN, P. L.; FERNANDES, J. M. C.; CAIERAO, E.; CONSOLI, L.; LIMA, M. I. P. M.; SANTANA, F. M.; BONATO, A. L. V.; NICHOLSON, P.; UAUY, C. Characterisation of Brazilian wheat cultivars in relation to the presence of the gene *Fhb1* for resistance to Fusarium head blight. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FUSARIUM HEAD BLIGHT, 5.; INTERNATIONAL WORKSHOP ON WHEAT BLAST, 2., 2016, Florianópolis, SC. **Book of Abstracts...** Passo Fundo: Editora Universidade de Passo Fundo, 2016. p. 38. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/144841/1/ID43674-2016LV-ISFHB.pdf>. Acesso em: 3 set. 2020.

SU, Z.; JIN, S.; ZHANG, D.; BAI, G. Development and validation of diagnostic markers for Fhb1 Region, a major QTL for Fusarium head blight resistance in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 131, n. 11, p. 2371-2380, Nov. 2018. DOI 10.1007/s00122-018-3159-6.

VINCELLI, P. Qol (Strobilurin) Fungicides: Benefits and Risks. **The Plant Health Instructor**, 2002. DOI 10.1094/PHI-I-2002-0809-02.

WESP-GUTERRES, C.; BRUINSMA, J. S.; SEIDEL, G. Efficacy of fungicides for FHB control and reduction of deoxynivalenol in wheat. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FUSARIUM HEAD BLIGHT, 5.; INTERNATIONAL WORKSHOP ON WHEAT BLAST, 2., 2016, Florianópolis, SC. **Book of Abstracts...** Passo Fundo: Editora Universidade de Passo Fundo, 2016a. p. 91. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/144841/1/ID43674-2016LV-ISFHB.pdf>. Acesso em: 3 Set. 2020.

WESP-GUTERRES, C.; BRUINSMA, J. S.; SEIDEL, G. Assessment of fungicide performance to control fusarium head blight in wheat and to reduce the production of deoxynivalenol. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FUSARIUM HEAD BLIGHT, 5.; INTERNATIONAL WORKSHOP ON WHEAT BLAST, 2., 2016, Florianópolis, SC. **Book of Abstracts...** Passo Fundo: Editora Universidade de Passo Fundo, 2016b. p. 92. Disponível em: <https://ainfo>.

cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/144841/1/ID43674-2016LV-ISFHB.pdf. Acesso em: 3 Set. 2020.

ZHU, Z.; HAO, Y.; MERGOUM, M.; BAI, G.; HUMPHREYS, G.; CLOUTIER, S.; XIA, X.; HE, Z. Breeding wheat for resistance to Fusarium head blight in the Global North: China, USA, and Canada. **The Crop Journal**, v. 7, n. 6, p. 730-738, Dec. 2019. DOI 10.1016/j.cj.2019.06.003.

José Maurício Cunha Fernandes
Willingthon Pavan
Felipe Vargas
Emerson Del Ponte

Introdução

Os avanços alcançados em melhoramento genético vegetal (novas cultivares) e em tecnologia de produção (práticas de manejo de cultivo e de proteção de plantas) colocaram a triticultura brasileira em alto nível de competitividade, tanto em rendimento de lavoura quanto em qualidade tecnológica do produto colhido. Não obstante esse fato, a triticultura brasileira não está isenta de riscos, especialmente os de natureza climática.

A produção brasileira de trigo, apesar do crescimento ocorrido recentemente no centro do País, com destaque para a elevação na área cultivada e em produção na Região Sudeste (Minas Gerais, principalmente), ainda está concentrada majoritariamente na Região Sul (Paraná e Rio Grande do Sul); quer seja pela expertise dos agricultores, pelos sistemas de produção de grãos em voga ou pela melhor aptidão do ambiente em comparação com as demais áreas agrícolas em uso no Brasil, de clima predominantemente tropical.

Isso posto, há que se entender que as anomalias climáticas extremas, especialmente em anos associados ao fenômeno *El Niño* – Oscilação Sul (Enos), exercem maior influência no regime hídrico de primavera/começo do verão na Região Sul, ocasionando número elevado de notificações de perdas devido, principalmente, a doenças causadas por fungos. Além dos baixos rendimentos, ocorrem perdas na qualidade tecnológica e sanitária dos grãos colhidos em algumas safras brasileiras de trigo (Mallmann et al., 2017).

¹ Processo de extração da fase etérea segundo adaptações ao método oficial AOCS Bc 3-49.

A variabilidade climática, tem implicações sobre epidemias de doenças de difícil controle em trigo como, por exemplo, a giberela, à qual está associada a contaminação de grãos cereais de inverno como o trigo com a micotoxina Deoxinivalenol (DON). Pavan et al. (2014), desenvolveram uma plataforma onde é possível integrar modelos de simulação de crescimento e desenvolvimento do trigo com modelos de simulação de giberela, por exemplo. Consultas à plataforma mostram que, em geral, no Sul do Brasil temos uma epidemia severa a cada 4 ou 5 anos. Lembrando que a grande maioria dos anos epidêmicos coincide com a ocorrência do fenômeno *El Niño* – Oscilação Sul (Enos). Cabendo ainda destacar que, nesse tipo de situação, quando coincide o estágio de espigamento com períodos chuvosos, a eficiência do controle químico da giberela, assim como de outras doenças de espiga, por meio do uso de fungicidas, é reduzida; além de, conforme as circunstâncias, quando há muita chuva, não ser possível a aplicação de fungicidas na parte aérea das plantas, devido à impossibilidade da entrada de máquinas nas lavouras, contribuindo para a ocorrência da doença mesmo em cultivares com melhor nível de resistência ao patógeno. De uma maneira geral, podemos dizer que em anos considerados não epidêmicos a fração de lotes com contaminação por DON superior ao permitido seria ao redor de 10%. Contrariamente, em anos com epidemias de moderada a severa, poderíamos encontrar uma fração de 20% a 50% das amostras com níveis de DON acima dos limites estabelecido.

No Sul do Brasil, o inóculo de giberela é abundante na atmosfera durante todo o período do ano. Isto é devido à ausência de invernos rigorosos e prolongados como observado em regiões do Hemisfério Norte. Além disso, temos um regime de chuvas que ocorre durante todos os meses do ano, garantindo períodos de umidade alta para o desenvolvimento dos peritécios e a consequente liberação dos ascósporos. Nos últimos 15 anos, foram feitas, via armadilha passiva de esporos, coletas de amostras diárias de propágulos de *G. zeae* na atmosfera. Os resultados obtidos em Passo Fundo, RS, mostram que a presença abundante destes esporos após dias de chuva independe da estação do ano. Novamente, aqui é reforçado o papel da chuva na liberação e dispersão de propágulos de *G. zeae* na atmosfera. É importante lembrar que *G. zeae* tem muitos outros hospedeiros além do trigo, da aveia, do milho e da cevada. A contaminação por DON não é exclusiva ao trigo, mas também ocorre em outros hospedeiros.

Assim, a produção e viabilidade da cultura do trigo no Sul do Brasil exige um conjunto de práticas de manejo que inclui o escalonamento da semeadura, a escolha de variedades mais resistentes, o uso de fungicidas aplicados no momento correto e

o monitoramento do risco com base em variáveis meteorológicas, tanto observadas como as de previsão de tempo. Uma abordagem interessante para mitigar a ameaça representada pela giberela do trigo é incorporar princípios de manejo integrado de pragas (MIP), embora a maioria dos programas de MIP exija que os agricultores visitem regularmente e observem seus campos para estimar os níveis de infecção. Além da natureza demorada das visitas repetidas em campo, essa abordagem é discutivelmente problemática porque requer um conhecimento avançado dos sintomas da doença. No entanto, uma vez que os sintomas são visíveis, a infecção já está em andamento. Isso limita aos agricultores controlar preventivamente a doença com fungicidas.

O manejo integrado de pragas é um processo que combina práticas de controle econômico de pragas, minimizando os riscos para as pessoas e para o meio ambiente. O gerenciamento integrado de pragas pode usar várias estratégias, incluindo alertas precoces do risco de um surto de praga. Em geral, esses sistemas de alerta são baseados em modelos empíricos de doenças que simulam um processo epidemiológico específico relacionado ao clima (Shah et al., 2019b).

Del Ponte et al. (2004), relatam a inter-relação de ocorrência de epidemias de giberela associadas a determinadas variáveis meteorológicas. Especificamente, o clima excepcionalmente úmido e quente durante o período da floração e enchimento dos grãos do trigo durante anos de grandes epidemias foram considerados fatores-chave para o desenvolvimento da giberela e o consequente acúmulo de micotoxinas.

Um dos desafios para os modeladores de doenças de plantas, além do desenvolvimento de equações matemáticas/estatísticas que integram biologia e climatologia, é fornecer um sistema eficiente e amigável de entrega de modelos. O uso de dados meteorológicos observados quase em tempo real e de previsão do tempo de curto prazo (5-7 dias) é vital para a previsão de ocorrência de epidemias, em nível local e regional.

Os avanços nos sistemas de vigilância de doenças, modelagem epidemiológica e tecnologia da informação geraram a expectativa de que os sistemas de alerta antecipado não sejam apenas viáveis, mas também ferramentas necessárias para entender a ocorrência e a propagação de doenças de plantas. O principal objetivo de um sistema de alerta é a coleta de dados direcionados para processos de tomada de decisão oportunos que acionam procedimentos de intervenção para reduzir o impacto das doenças na quantidade e qualidade do produto econômico. Portanto, o sistema alerta quanto ao risco de ocorrência de uma epidemia com base na ocorrência de

condições favoráveis para o estabelecimento da doença, o qual deve ser rapidamente comunicado aos produtores ou técnicos responsáveis pelas decisões.

Modelo de simulação de epidemias de giberela

Vários cientistas no mundo têm voltado a atenção para a identificação de fatores de risco, e assim desenvolver modelos matemáticos que descrevem ou simulam as epidemias de giberela, com potencial de aplicação na previsão de epidemias (Del Ponte et al., 2004; Prandini et al., 2009; Shah et al., 2019a). No Brasil, foi desenvolvido um modelo mecanístico e dinâmico para prever o risco de epidemia de giberela. O modelo denominado GIBSIM considera a fenologia da planta de trigo, a densidade de inóculo aéreo de *Gibberella zeae* e o ambiente (Del Ponte et al., 2005). O modelo contém sub-modelos que se integram para simular a dinâmica do florescimento em função do ambiente, considerando o assincronismo na emissão de espigas, ao mesmo tempo em que calcula a densidade da nuvem de esporos e o risco de infecções de giberela, conforme regras baseadas em eventos climáticos, ao longo do período de suscetibilidade (Figura 1).

O sub-modelo hospedeiro inicia a partir da emergência das primeiras espigas (Iesp), quando os grupos de espigas emergidas a cada dia são calculados em função da taxa de emergência de espigas (ESP). Cada grupo de espigas (Gesp) inicia o processo de extrusão de suas anteras (ANT) 5 dias após a emergência. A duração do período total de extrusão das anteras, em cada grupo de espigas, é regulada pela taxa de extrusão de anteras (EXT). Acoplando-se os dois modelos, é calculada a proporção diária de anteras extrusadas.

Para cada grupo de espigas com anteras extrusadas em um mesmo dia, é aplicada uma regra que regula a duração de vida das anteras, ou seja, o tempo em que estas ficam presas às espiguetas, em função da radiação solar (RAD), que calcula a proporção de anteras presas. A proporção de anteras presas é calculada desde o início de extrusão das anteras na primeira espiga, até a última espiga emergida a ter suas anteras liberadas. Desta forma, o modelo estima o período de maior suscetibilidade, onde se preconiza o acionamento de táticas de controle, na iminência de um risco severo de infecção.

O sub-modelo nuvem de esporos, assume que o inóculo está presente nos resíduos da superfície do solo (Ires), sendo os ascósporos de *G. zeae* liberados e dispersos

em função da taxa de dispersão de esporos (DIS), que regula a densidade da nuvem de esporos de *G. zeae* (NGZ).

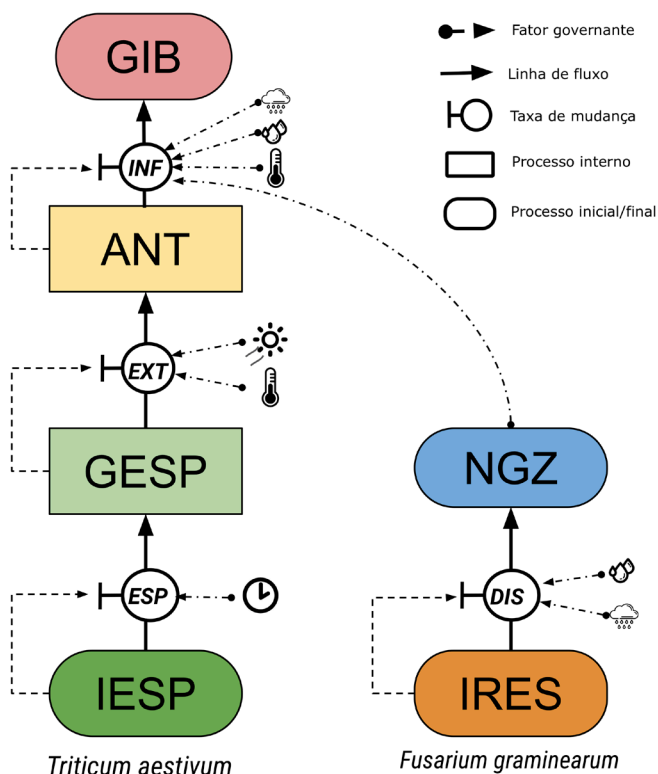


Figura 1. Diagrama relacional de modelo de simulação de epidemias de giberela - GIBSIM.

Fonte: Adaptado de Del Ponte et al. (2005).

O sub-modelo risco giberela, usa a taxa de infecção (INF) para calcular diariamente o risco (GIB), classificando-o como leve, moderado ou severo, baseando-se em regras de decisão de uma combinação de eventos climáticos condicionantes à infecção. O risco é iniciado toda vez que se tem um evento de chuva e a nuvem de esporos apresentar valor superior a 0,15. A partir deste momento, regras de decisão determinam a intensidade do risco.

As variáveis meteorológicas que influenciam a taxas de crescimento do hospedeiro são a temperatura (T) e a radiação solar (RAD). A densidade da nuvem de esporos

é influenciada pela precipitação, umidade relativa (UR) e dias consecutivos de precipitação (DCP).

Implementação do modelo de simulação de ocorrência de epidemias de giberela

O modelo GIBSIM simula, a partir do início do espigamento da cultura do trigo e com base nos dados meteorológicos, o risco diário do agente causal da giberela se estabelecer nas espigas do trigo. O somatório de eventos de infecção corresponde à severidade da epidemia. Por outro lado, o uso de prognósticos de tempo de curto prazo (5 dias) como entrada para o modelo Gibsim faz com que o sistema possa realmente prever situações de risco. Com a melhoria da qualidade dos prognósticos de tempo, uma estimativa mais exata de variáveis importantes para o modelo Gibsim, tais como precipitação, umidade relativa e temperatura, torna possível prever a ocorrência ou não de epidemias severas. Isso é, especialmente, interessante para o manejo da giberela, tendo em vista que a utilização desnecessária de fungicidas, seguindo um calendário, ocasiona impactos significativos no custo de produção e no meio ambiente. Além disso, aplicações fora do momento apropriado podem resultar em um inadequado controle da doença.

As tecnologias de informação e comunicação vêm promovendo na sociedade uma revolução, da qual o setor agrícola está se beneficiando. A Internet é um benefício que, se ainda não alcança a grande maioria dos agricultores, certamente alcança os técnicos responsáveis por transferir informação aos agricultores.

O modelo de simulação de epidemias de giberela-Gibsim está inserido em uma plataforma multi-modelo denominada Sistema de Previsão de Risco de Epidemias de Doenças de Plantas (Sisalert). Esta plataforma contempla um conjunto de API (Application Programming Interface) codificadas com a finalidade de coletar dados meteorológicos obtidos de estações automáticas e de prognósticos de tempo; processa as informações por diversos modelos epidemiológicos, simples ou complexos; gera alertas de risco de epidemias; e distribui a informação de risco para os usuários (Figura 2). Com os dados observados, o sistema fornece informações sobre o comportamento passado ou recente da doença. Com dados de prognósticos meteorológicos é possível a predição antecipada do risco de uma epidemia.

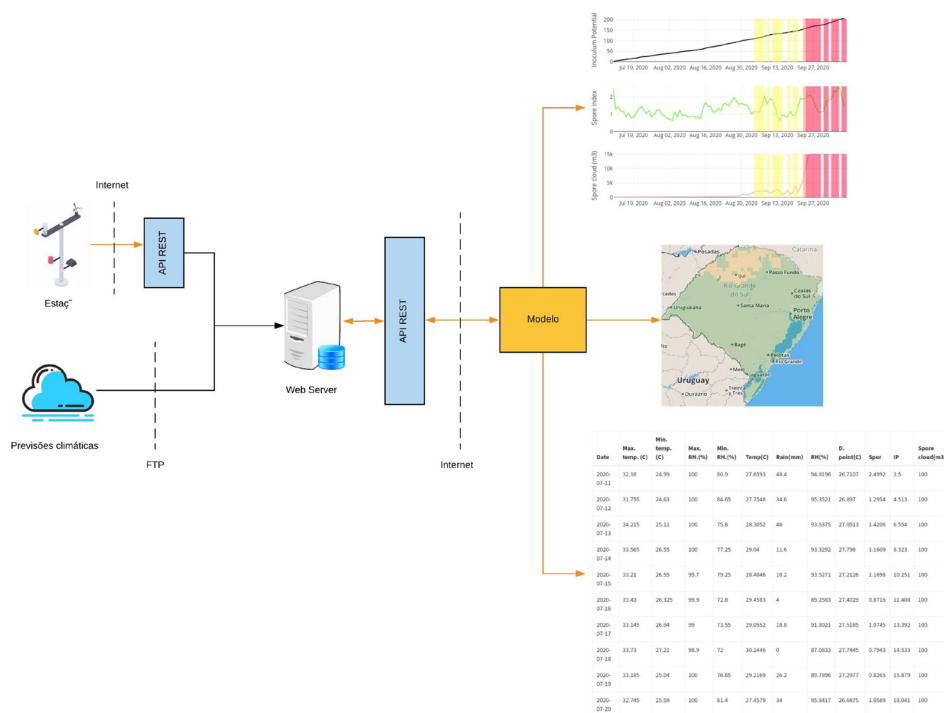


Figura 2. Representação diagramática da plataforma Sisalert.

Considerações Finais

A ferramenta Sisalert tem-se mostrado metodologicamente eficiente e pode ser de grande utilidade para o auxílio à tomada de decisão. No caso específico da cultura do trigo, o sistema vem sendo utilizado com sucesso, provendo informação sobre o risco de ocorrência de epidemias de giberela e de brusone. Esta informação é valiosa, pois fornece previsões oportunas que os agricultores possam usar para mitigar eventos potencialmente prejudiciais através do controle preventivo.

Referências

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PIEROBOM, C. R.; BERGSTROM, G. C. Giberela do trigo: aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 587-605, dez. 2004.

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PAVAN, W. A risk infection simulation model for Fusarium head blight of wheat. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 6, p. 634-642, Nov./Dec. 2005. DOI 10.1590/S0100-41582005000600011.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; MALLMANN, A. O.; OLIVEIRA, M. S.; ADANIYA, Z. N. C.; TONINI, C. Prevalence and levels of deoxynivalenol and zearalenone in commercial barley and wheat grain produced in Southern Brazil: an eight-year (2008 to 2015) summary. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 3, p. 146-152, Maiy 2017. DOI 10.1007/s40858-017-0152-6.

PAVAN, W.; FERNANDES, J. M. C.; LAZZARETTI, A.; TOEBE, J.; BAVARESCO, J. L. B.; RUANE, A. C.; TSUKAHARA, R. Y. An integrative modeling framework to evaluate wheat production systems: Fusarium head blight. In: INTERNATIONAL ENVIRONMENTAL MODELLING AND SOFTWARE SOCIETY, 7., 2014, San Diego, CA. **Proceedings**.... San Diego, CA, USA: iEMSs, 2014. v. 1.

PRANDINI, A.; SIGOLO, S.; FILIPPI, L.; BATTILANI, P.; PIVA, G. Review of predictive models for Fusarium head blight and related mycotoxin contamination in wheat. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 5, p. 927-931, May 2009. DOI 10.1016/j.fct.2008.06.010.

SHAH, D. A.; DE WOLF, E. D.; PAUL, P. A.; MADDEN, L. V. Functional data analysis of weather variables linked to Fusarium head blight epidemics in the United States. **Phytopathology**, v. 109, n. 1, p. 96-110, Jan. 2019a. DOI 10.1094/PHYTO-11-17-0386-R.

SHAH, D. A.; DE WOLF, E. D.; PAUL, P. A.; MADDEN, L. V. Predicting plant disease epidemics from functionally represented weather series. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 374, n. 1775, June 2019b. DOI 10.1098/rstb.2018.0273.

Carlos Augusto Mallmann
Denize Tyska
Adriano Olnei Mallmann

Amostragem para análise de micotoxinas

A distribuição das micotoxinas em um lote de alimento é heterogênea e, por isso, a amostragem para análise em cereais é mais complexa que uma amostragem para análise de proteína, por exemplo. Essa característica dificulta a obtenção de uma amostra representativa, determinando equívocos na interpretação dos resultados e no diagnóstico (Miraglia et al., 2005). O problema é agravado pelo fato de as micotoxinas se concentrarem em níveis baixos (parte por bilhão - ppb). Um exemplo prático para entender o universo dessa medida é considerar que 1 bilhão de grãos de trigo corresponde a aproximadamente 35 t. Logo, 1 ppb é o equivalente a um grão distribuído em uma carga de 35 t de trigo.

De maneira geral, não há uma correlação consistente entre os níveis de grãos danificados por giberela e a concentração de micotoxinas. A inconsistência entre a presença de giberela e a concentração de micotoxinas, dificulta a segregação prévia de lotes de grãos, gerando grande demanda por análises pelos métodos de detecção direta.

Para assegurar que a amostra destinada à análise seja representativa, devem ser usadas técnicas de amostragem apropriadas. De forma geral, a amostragem de cereais para análise de micotoxinas deve seguir as seguintes etapas (Mallmann; Dilkin, 2007):

1. Várias amostras pequenas (incrementos) são coletadas aleatoriamente do lote e somadas para formar amostra composta;
2. A amostra composta é homogeneizada e reduzida (≥ 2.000 g);
3. A amostra composta reduzida é homogeneizada, retirando-se amostra final ou de laboratório.

A eficácia de um procedimento de quantificação pode ser medida pela variação em cada uma de suas etapas. A variação total dos resultados da concentração da micotoxina constitui o erro, que é o resultado da soma da variância da amostragem, variância da preparação da amostra e variância da análise (Whitaker et al., 2011). Nessas avaliações, constata-se que a etapa de amostragem representa em torno de 60%-95% do erro total e as etapas de subamostragem e análise contribuem com 4%-30% e 1%-10%, respectivamente (FAO, 1993; Johansson et al., 2000; Biselli et al., 2008; Mallmann et al., 2013; Mallmann et al., 2014).

A União Europeia emitiu um documento orientador para amostragem de cereais para quantificar micotoxinas (European..., 2014), com finalidade de tornar mais práticas e factíveis as exigências do Regulamento 401/2006 (European..., 2006). No Brasil, a amostragem de trigo é regulamentada pela Instrução normativa nº 38 (Ministério..., 2010), a qual especifica o número de pontos de amostragem e a quantidade de amostras que devem ser destinadas às análises laboratoriais. Entretanto, independentemente da situação, um plano amostral deve ser seguido respeitando-se padrões operacionais.

A ampla variabilidade dos resultados e a baixa representatividade são problemas constantemente enfrentados durante a amostragem. Entretanto, para reduzir o erro dessa etapa, pode-se aumentar o volume da amostra e o número de pontos de amostragem. Em geral, materiais previamente triturados apresentam distribuição mais homogênea das micotoxinas em sua massa pelo maior número de partículas (Whitaker, 2006).

A coleta de amostras de cereais para análise de micotoxinas pode ser realizada por método manual ou automático. Os equipamentos recomendados para a coleta manual consistem em pás, conchas de bordos retangulares, caladores ou equipamentos pneumáticos compatíveis com o tamanho do lote e partículas do material amostrado. A amostragem automática, segundo Mallmann e Dilkin (2007), é mais prática e eficiente e, consiste em movimentar os grãos através de rosca transportadora. Os incrementos (grãos inteiros ou moídos) são coletados através de perfurações efetuadas nas tubulações.

Mallmann et al. (2013), avaliaram a eficiência de métodos de amostragem manual e automático para análise de fumonisinas em 11 lotes de milho. A amostragem manual foi realizada na massa de grãos inteiros, utilizando calador graneleiro com 10 câmaras coletoras; enquanto a automática, denominada Amostragem Automática em Fluxo Contínuo (AAFC), foi realizada na massa de grãos moídos, através de perfurações

efetuadas na rosca transportadora. Na AAFC, obtiveram-se resultados inferiores ($P < 0,01$) de variância ($22,6 \text{ ppb}^2$) e do coeficiente de variação total ($6,37\%$), quando comparados com a variância ($68,5 \text{ ppb}^2$) e coeficiente de variação total do plano de amostragem manual em grãos inteiros ($8,94\%$). Portanto, a AAFC foi mais eficiente na determinação de fumonisinas em milho.

Independentemente do método de coleta empregado, o volume de amostra deve representar todo o lote. A homogeneização também é indispensável, podendo ser realizada em misturador em “Y” ou quarteador. Na falta destes equipamentos deve-se utilizar o sistema de redução de amostras em cruz. Após a coleta, o material deve ser embalado, lacrado e mantido em condições que permitam manutenção de suas características até a chegada ao laboratório de análise. Atividade de água acima de 0,7 aliada à temperaturas que favoreçam a expressão toxigênica do fungo, havendo perda de representatividade da amostra.

Considerando a relevância da etapa de amostragem no monitoramento de micotoxinas foram resumidas, a seguir, as indicações descritas em várias metodologias. As indicações específicas para amostragem de trigo, em cada etapa da produção e pós-colheita, foram compiladas a partir dos seguintes documentos: American... (2001), Brasil (2010), European... (2006, 2014) e Whitaker et al. (2011).

Como obter amostras representativas

1. Utilizar equipamentos adequados, como calador manual ou pneumático para grãos armazenados em caminhões, vagões e containers; sonda pneumática para grãos armazenados em silos e armazéns e amostrador mecânico desviador, amostrador tipo “pelicano” ou amostragem automática (AAFC) para grãos em movimento;
2. Utilizar padrões e procedimentos de amostragem projetados para coletar amostras de todas as áreas (pontos) do lote, para obter representatividade na amostra final;
3. Retirar impurezas que possam interferir nos resultados;
4. Utilizar separador de grãos (quarteador) ou “Y”;
5. Coletar volume apropriado para representar todo o lote, sendo de no mínimo 1.000 g. Como recomendação geral, a amostra em kg deve ser obtida de acordo com a fórmula: $\sqrt{20 \times T \text{ (toneladas)}}$. Exemplo: para um lote de 100 toneladas, coletar 45 kg de grãos (amostra composta);

6. Ser devidamente identificada e rotulada na embalagem;
7. Manusear de modo a manter a representatividade, armazenadas em local fresco e seco, encaminhadas em sacos de papel de revestimento duplo ou triplo ou sacos de tecido que permitam trocas gasosas; evitar o acondicionamento de amostras em sacos plásticos, que podem promover o crescimento de fungos, em condições de alta umidade e temperatura do ar.

Indicações para amostragem mecânica em lavouras comerciais

1. Obter uma amostra representativa, combinando 2.000 g a 2.500 g de grãos, coletados em vários pontos (mínimo quatro) no lote de grãos;
2. Limpar a amostra para remover impurezas e materiais estranhos. No caso de determinar o impacto de manejos adotados na produção no acúmulo de micotoxinas, a amostragem deverá ser efetuada antes da limpeza, utilizando integralmente os grãos colhidos;
3. Obter aproximadamente 200 g de amostra utilizando um separador de grãos;
4. Enviar as amostras ao laboratório de análises.

Indicações para amostragem em parcelas experimentais

Amostragem de parcelas colhidas mecanicamente:

1. Colher a parcela, adotando baixo fluxo de ar da colhedora para reter os grãos mais leves, potencialmente danificados por giberela;
2. Obter amostra de 200 g, utilizando separador de sementes;
3. Limpar a amostra manualmente ou com equipamento de limpeza de grãos;
4. Enviar as amostras ao laboratório de análises.

Amostragem de parcelas colhidas manualmente

1. Escolher porção da linha de semeadura homogênea (sem falhas no estande);
2. Coletar todas as espigas em aproximadamente 2,0 m, na sequência da linha de semeadura;
3. Selecionar 100 espigas de maior tamanho e uniformes;
4. Trilhar as espigas em conjunto em trilhadeira elétrica estacionária ou manualmente. A entrada de ar na máquina deve ser reduzida, visando retenção total de grãos;
5. Enviar as amostras ao laboratório de análises.

Quando a subamostragem é realizada em lotes maiores, recomenda-se obtenção de amostra representativa, utilizando separador de grãos.

Indicações para amostragem em meios de transporte

1. Coletar amostras em pontos uniformemente distribuídos em todas as profundidades da carga, utilizando calador graneleiro ou calador pneumático. Coletar no mínimo 1.000 g em cada ponto;
2. Até 15 toneladas, amostrar cinco pontos; de 15 a 30 toneladas, amostrar oito pontos; e a partir de 30 toneladas amostrar 11 pontos;
3. Enviar as amostras ao laboratório de análises.

Indicações para amostragem no armazenamento

1. Dar preferência para coleta de amostras em equipamentos de movimentação de grãos (carga, descarga ou transilagem) em tamanho que respeite a fórmula: $\sqrt{20 \times T \text{ (toneladas)}}$. No entanto, quando só for possível amostrar o lote de forma estática, pode-se utilizar uma sonda pneumática para coletar os grãos de toda profundidade do silo ou armazém, conforme procedimento descrito por Mallmann et al. (2018);
2. Esta amostra composta deve ser homogeneizada e quarteada, antes de compor a amostra a ser analisada;
3. Enviar as amostras ao laboratório de análises.

Armazenamento e moagem de amostras

As amostras recebidas no laboratório devem ser protocoladas e analisadas com rapidez. Em caso de armazenamento, utilizar câmara fria sob temperatura menor que 10 °C e atividade de água (Aw) abaixo de 0,7. Antes da análise, acondicionar as amostras até atingirem a temperatura ambiente.

Triturar a amostra de modo que 95% das partículas passem por peneira de 18 mesh (diâmetro inferior a 1,0 mm); homogeneizar e analisar a amostra com a metodologia selecionada. Na moagem, deve ser evitada contaminação cruzada de amostras, através da limpeza do moinho.

Métodos para quantificação de micotoxinas

A legislação brasileira para micotoxinas determina os níveis máximos toleráveis para deoxinivalenol (DON), zearalenona (ZEA) e ocratoxina A em cereais e subprodutos (Agência...,2011). Consequentemente, para atender às exigências da legislação, proteger os consumidores de exposição ao risco e estabelecer amplos programas de monitoramento e de boas práticas, milhares de amostras de trigo deverão ser analisadas, demandando assim por métodos rápidos, confiáveis e sensíveis para a quantificação de micotoxinas (Lattanzio et al., 2009).

Os métodos disponíveis para análises de micotoxinas variam de qualitativos, que consistem em determinar a presença/ausência de determinada micotoxina, aos métodos analíticos altamente precisos, capazes de quantificar níveis extremamente baixos de diferentes micotoxinas. A maioria dos métodos preconiza em comum: amostragem, moagem da amostra, homogeneização, extração e purificação. A separação de compostos de interesse geralmente é realizada através de técnicas imunoenzimáticas ou cromatográficas, seguidas de métodos de detecção. Especialmente na última década, os estudos com Near Infrared spectroscopy (NIR) para predição de micotoxinas foram intensificados, já sendo utilizado como método de gerenciamento de risco. Atualmente os métodos mais empregados para quantificação de micotoxinas são: cromatográficos, Elisa (Enzyme linked immunosorbent assay) e NIR (Near Infrared spectroscopy).

Cromatografia

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) possui alta precisão e reprodutibilidade, mesmo com amostras com baixas concentrações de micotoxinas. Interferências nos resultados são reduzidas ao máximo em comparação com outros métodos, em consequência da separação cromatográfica realizada antes da detecção. Devido à fluorescência de compostos como aflatoxinas e fumonisinas, a utilização de detectores de fluorescência associados à HPLC, tornou-se mais comum. O grande avanço na detecção de micotoxinas foi obtido com a associação da cromatografia líquida à detecção por espectrometria de massas (LC-MS) (Contreras-Medina et al., 2013). Métodos envolvendo LC-MS foram pouco utilizados até a segunda metade dos anos 90, quando avanços na fonte de ionização e na interface entre zonas de pressão atmosférica e de vácuo aumentaram sua robustez, praticidade, seletividade, exatidão e compatibilidade com diferentes compostos em ampla faixa de polaridade. O potencial da LC-MS voltou a crescer com o surgimento

da cromatografia líquida associada à espectrometria de massas sequencial (LC-MS/MS).

Os métodos cromatográficos envolvem procedimentos demorados e caros, demandam estrutura e pessoal treinado, fatores que limitam sua utilização em análises de rotina de grande volume de amostras (Xu et al., 2010). Porém, tecnologias mais recentes, empregando LC-MS/MS, podem analisar 48 micotoxinas, especialmente as que se confundem com o DON como 3-Ac-DON e 15-Ac-DON, responsáveis por desvios nos resultados de outros métodos. Estes desvios são relevantes na implementação da legislação, por apresentarem resultados divergentes dos obtidos por laboratórios oficiais que utilizam métodos de referência, acreditados pela ISO 17.025, todas baseadas em HPLC. Assim, LC-MS/MS é o instrumento analítico de referência para determinação de micotoxinas e seus metabólitos. Esta técnica multitoxinas inclui vantagens como menor limite de detecção, capacidade de gerar informações estruturais dos analitos, mínima exigência de tratamento da amostra e a possibilidade de detectar ampla variedade de analitos de diferentes polaridades (Berthiller et al., 2007). Os métodos analíticos multitoxinas são preferencialmente recomendáveis, devido à ocorrência natural de diferentes micotoxinas na mesma matriz. A maior especificidade e sensibilidade da LC-MS/MS propicia o desenvolvimento de métodos que dispensam procedimentos de isolamento (clean-up) e/ou pré-concentração, além de diminuir a necessidade de separação cromatográfica entre compostos.

Kits imunoenzimáticos (Elisa)

Técnicas imunoenzimáticas baseiam-se na interação anticorpos e antígenos. O tipo mais comum é ELISA que permite a detecção por comparação visual de cores a métodos mais complexos como espectrofotometria, amperometria e voltametria de pulso diferencial. A técnica é utilizada na detecção de micotoxinas devido à sua sensibilidade, especificidade, rapidez e facilidade de manuseio (Zheng et al., 2006). É também considerada de baixo custo e sem a exigência de mão de obra especializada (Lúcio et al., 2007). Trata-se de um método eficiente, capaz de detectar baixas concentrações de micotoxinas (Zheng et al., 2006). Esses métodos imunológicos podem detectar a maioria das micotoxinas, mas são usados principalmente para triagem. As principais desvantagens são o número de falso-positivos (devido à reatividade cruzada e dependência de matriz) ou falso-negativos (devido à baixa sensibilidade) em comparação aos métodos cromatográficos (Levasseur-Garcia, 2015).

Nesse caso, a confirmação por procedimento baseado em cromatografia líquida é obrigatória (Kos et al., 2016a). A ocorrência de falso-positivos é explicada pela sensibilidade relacionada aos compostos interferentes da matriz ou pela fraca especificidade dos anticorpos; muitas micotoxinas têm estruturas químicas semelhantes e, por isso, existe a possibilidade de reações cruzadas entre anticorpos produzidos para uma determinada micotoxina contra outras que podem estar presentes na matriz. Atualmente, recomenda-se que resultados positivos do teste de ELISA sejam acompanhados de técnicas cromatográficas instrumentais mais específicas para a devida confirmação (Motta; Duarte, 2010).

Organizações como a AOAC International e GIPSA - Grain Inspection, Packers and Stockyards Administration, executam validações de kits imunoenzimáticos para análise rápida de micotoxinas a fim de verificar o desempenho e a reprodutibilidade dos testes (Meneely et al., 2011; USDA..., 2020). No que diz respeito a validação de metodologias, o ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para validação de processos analíticos. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois reflete a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra (Gonçalves et al., 1999). Valores de recuperação com intervalos entre 70% a 120% são considerados aceitáveis para micotoxinas (European..., 2006). Pleadin et al. (2013) avaliaram o método Elisa em amostras de cereais (milho, trigo, cevada e aveia). Os autores encontraram taxas de recuperação média de 73% a 104%, demonstrando assim sua eficiência e precisão para analisar DON, ZEA, fumonisinas e toxina T-2 (Pleadin et al., 2013).

Anticorpos são altamente específicos, entretanto, em compostos análogos, como micotoxinas, podem ocorrer reações cruzadas. Meneely et al. (2011), revisaram os principais métodos para análise de micotoxinas em alimentos, enfatizando que um dos requerimentos fundamentais em testes imunológicos é a especificidade do anticorpo, prevenindo a reação cruzada com outros constituintes da amostra.

Wang et al. (2013), conduziram ensaio para detecção de ZEA e fumonisina B₁ em amostras de milho, trigo e rações, utilizando método imunocromatográfico e relataram níveis de detecção de 6 e 50 ng/ml, respectivamente. De acordo com os autores, as tiras imunocromatográficas permitiram adequada correlação entre métodos cromatográficos e kits comerciais Elisa, conferindo agilidade e economia na quantificação de micotoxinas em cereais. As tiras imunológicas quantificam micotoxinas através de leitora de reflectância. Este método é robusto, podendo ser utilizado na detecção de proteínas expressas por modificações genéticas em

culturas de sementes/grãos, micotoxinas e patógenos. Tiras imunológicas também foram utilizadas para detecção de ocratoxina A em milho e trigo permitindo boa correlação com métodos cromatográficos (Anfossi et al., 2011). Enquanto métodos imunoenzimáticos necessitam anticorpos específicos para cada micotoxina, técnicas cromatográficas são capazes de separar ampla gama de analitos.

Infravermelho próximo (NIR)

O NIR é uma técnica analítica que consiste basicamente em incidir sobre a amostra um feixe de luz infravermelho medindo-se a quantidade de luz absorvida pelo material. A técnica produz um espectro, ou seja, um conjunto de valores de absorbância, em diferentes números de onda da região espectral utilizada. Os valores de absorbância refletem as características químicas e estruturais do material (Stuart, 2004). Essa técnica está relacionada com a natureza das ligações moleculares, que por sua vez são definidas pelas ligações entre os átomos ou grupo de átomos que constituem a amostra. Essas informações podem ser expressas de diferentes formas na espectroscopia. Quando uma amostra de material orgânico é irradiada, as ligações químicas vibram continuamente provocando um alongamento e flexão das moléculas, o que gera um tipo de movimento de onda característico do grupo funcional que a compõe (Foley et al., 1998).

Métodos baseados em NIR têm sido popularizados, especialmente devido à não destrutividade da amostra, rapidez, mínima preparação da amostra e baixo custo (Willams, 2007). Estes métodos envolvem o estudo da correlação dos espectros da amostra com a concentração do componente de interesse, tal como determinado por método padrão de referência (Ross; Bettge, 2009). Pojić e Mastilović (2013) revisaram aplicações do NIR para determinar a composição química de trigo, reportando informações aplicáveis do melhoramento genético à comercialização. Para micotoxinas em trigo, diversos estudos estão sendo conduzidos ao longo dos últimos anos para determinar as bandas de absorção nos quais estes contaminantes respondem à energia irradiada (Contreras-Medina et al., 2013). Quando ocorre a infestação por fungos e micotoxinas, ocorrem algumas alterações na estrutura química dos alimentos, e por consequência no espectro, o que faz com que o NIR tenha habilidade em realizar a predição (Mcmullin et al., 2015; Kos et al., 2016b; Shi; Yu, 2018). Porém, essas bandas ainda não estão bem definidas e necessitam mais estudos na área. A faixa de concentração relativamente baixa das micotoxinas dificulta a análise quantitativa via NIR, inicialmente desenvolvida para quantificar compostos com maiores níveis de concentração. No entanto, maior exatidão de modelos de calibração pode

ser obtida aumentando a faixa e a distribuição de níveis/concentrações de micotoxina no conjunto de amostras de calibração (De Girolamo et al., 2009). Beyer et al. (2010), relataram coeficiente de determinação de 0,84 entre conteúdo de DON obtido por dados de espectroscopia submetidos à regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) e resultados de DON obtidos pelo método cromatográfico. De Girolamo et al. (2009), relataram que equipamentos de infravermelho próximo com transformada de Fourier (FT-NIR) foram adequados para determinar DON em amostras de trigo (comum e durum), em níveis menores que os limites máximos estabelecidos pela legislação da Comissão Europeia em trigo não processado (1.250 ppb e 1.750 ppb, respectivamente).

As principais vantagens do método NIR em relação às outras metodologias são: o preparo da amostra, que consiste apenas na moagem e a possibilidade de obter a predição de várias micotoxinas e de outros compostos químicos a partir de um único espectro. A utilização do NIR, conectado a plataformas online automatizadas, possibilita a criação de um banco de dados muito robusto e com maior segurança para o gerenciamento de riscos aliado a agilidade na resposta, facilidade de uso e menor custo, pode-se realizar um número de análises muito maior, aumentando-se consideravelmente o nível de segurança. Conforme supracitado, em virtude da distribuição heterogênea das micotoxinas na massa de grãos, se o número de amostras de um lote de grãos for incrementado, o erro da etapa de amostragem (que é a etapa com maior erro) é reduzido.

Considerações finais

A associação de métodos rápidos com métodos de referência é altamente benéfica para a quantificação de micotoxinas na cadeia produtiva do trigo e de outros cereais. Métodos quantitativos rápidos podem viabilizar análise de grande volume de amostras (triagem) de forma econômica, contribuindo para orientar a logística e a segregação de lotes. No entanto, para fins legais ou em situações em que são requeridos resultados precisos, deve-se optar por técnicas capazes de quantificar diferentes níveis de micotoxinas com acurácia. Nesse sentido, é necessário que os laboratórios de ensaios, que realizam tais análises, disponham de controle de qualidade para demonstrar a credibilidade nos resultados obtidos.

Referências

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Approved Methods of Analysis. 10th ed. St. Paul, MN, U. S. A.: AACCI Method 64-70A. **Manual Sampling of Wheat and Other Whole Grains**. Cereals & GrainsApproved 2001.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 138, de 08 de fevereiro de 2017. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos, para alterar os LMT da micotoxina deoxinivalenol (DON) em trigo e produtos de trigo prontos para oferta ao consumidor e os prazos para sua aplicação. **Diário Oficial da União**, seção 1, n. 29, p. 45, 9 fev. 2017.

ANFOSSI, L.; D'ARCO, G.; BAGGIANI, C.; GIOVANNI, C.; GIRAUDI, G. A lateral flow immunoassay for measuring Ochratoxin A: Development of a single system for maize, wheat and durum wheat. **Food Control**, v. 22, n. 12, p. 1965-1970, Dez. 2011. DOI 10.1016/j.foodcont.2011.05.012.

BERTHILLER, F.; Sulyok, M.; KRSKA, R.; SCHUHMACHER, R. Chromatographic methods for the simultaneous determination of mycotoxins and their conjugates in cereals. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, n. 1-2, p. 33-37, Oct. 2007. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.022.

BEYER, M.; POGODA, F.; RONELLENFITSCH, F. K.; HOFFMANN, L.; UDELHOVEN, T. Estimating Deoxynivalenol contents of wheat samples containing different levels of Fusarium damaged kernels by diffuse reflectance spectrometry and partial least square regression. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, n. 3, p. 370-374, 2010. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.07.016.

BISELLI, S.; PERSIN, C.; SYBEN, M. Investigation of the distribution of Deoxynivalenol and Ochratoxin A contamination within a 26 t truckload of wheat kernels. **Mycotoxin Research**, v. 24, n. 2, p. 98-104, Jun. 2008. DOI 10.1007/bf02985287.

CONTRERAS-MEDINA, L. M.; ESPINOSA-CALDERON, A.; DUARTE-GALVAN, C.; FERNANDEZ-JARAMILLO, A. A.; MUÑOZ-HUERTA, R. F.; MILLAN-ALMARAZ, J. R.; GUEVARA-GONZALEZ, R. G.; TORRES-PACHECO, I. Characteristics of mycotoxin analysis tools for tomorrow. In: RAZZAGHI-ABYANEH, M. (Ed.). **Aflatoxins-Recent advances and future prospects**. Rijeka, Croatia: InTech, 2013. p. 289-313. DOI 10.5772/51683.

DE GIROLAMO, A.; LIPPOLIS, V.; NORDKVIST, E.; VISCONTI, A. Rapid and non-invasive analysis of Deoxynivalenol in durum and common wheat by Fourier-Transform Near Infrared (FT-NIR) spectroscopy. **Food Additives and Contaminants: Part A, Chemistry, Analy-**

sis, Control, Exposure and Risk Assessment, v. 26, n. 6, p. 907-917, Jun. 2009. DOI 10.1080/02652030902788946.

EUROPEAN UNION. Commission Regulation (EC) 401/2006. **Official Journal of the European Union**, L 70, p. 12-34, 2006.

EUROPEAN UNION. Commission Regulation (EC) 519/2014. **Official Journal of the European Union**, L 147, p. 29-43, 2014.

FAO. **Sampling plans for Aflatoxin analysis in peanuts and corn**. Rome, 1993. (Estudio FAO Food and Nutrition, 55). p. 27-56.

FOLEY, W. J.; MCILWEE, A.; LAWLER, I.; ARAGONES, L.; WOOLNOUGH, A. P.; BERDING, N. Ecological applications of near infrared reflectance spectroscopy - a tool for rapid, cost-effective prediction of the composition of plant and animal tissues and aspects of animal performance. **Oecologia**, v. 116, p. 293-305, 1998. DOI 10.1007/s004420050591.

JOHANSSON, A. S.; WHITAKER, T. B.; HAGLER, W. M.; GIESBRECHT, F. G.; YOUNG, J. H.; BOWMAN, D. T. Testing shelled corn for aflatoxin, part I: estimation of variance components. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 83, n. 5, p. 1264-1269, Sept./Oct. 2000.

KOS, J.; JANIĆ-HAJNAL, E.; JAJIĆ, I.; KRSTOVIĆ, S.; MASTILOVIĆ, J.; ŠARIĆ, B.; JOVANOVIĆ, P. Comparison of ELISA, HPLC-FLD and HPLC-MS/MS methods for determination of Aflatoxin M1 in natural contaminated milk samples. **Acta Chimica Slovenica**, v. 63, n. 4, p. 747-756, Dec. 2016a. DOI 10.17344/acsi.2016.2451.

KOS, G.; SIEGER, M.; MCMULLIN, D.; ZAHRADNIK, C.; SULYOK, M.; ÖNER, T.; MIZAIKOFF, B.; KRŠKA, R. A novel chemometric classification for FTIR spectra of mycotoxin-contaminated maize and peanuts at regulatory limits. **Food Additives and Contaminants: Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 33, n.10, p. 1596-1607, Oct. 2016b. DOI 10.1080/19440049.2016.1217567.

LATTANZIO, V. M. T.; PASCALE, M.; VISCONTI, A. Current analytical methods for trichothecene mycotoxins in cereals. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 6, p. 758-768, June 2009. DOI 10.1016/j.trac.2009.04.012.

LEVASSEUR-GARCIA, C.; BAILLY, S.; KLEIBER, D.; BAILLY, J. D. Assessing risk of fumonisin contamination in maize using Near-Infrared Spectroscopy. **Journal of Chemistry**, v. 2015, n. 485864, 10 p., July 2015. DOI 10.1155/2015/485864.

LÚCIO, C. H.; PINTO, N. F. J. de A.; MARRIEL, I. E. **Otimização do método de Elisa indireto não competitivo para detecção e quantificação de aflatoxina B1 em cereais**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007. 7 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado Técnico, 152). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/490991>. Acesso em: 8 set. 2020.

MALLMANN, C. A.; DILKIN, P. **Micotoxinas e micotoxicoses em suínos**. Santa Maria: Sociedade Vicente Pallotti Editora, 2007. 232 p.

MALLMANN, A. O.; MARCHIORO, A.; OLIVEIRA, M. S.; MINETTO, L.; WOVST, L. R. da S.; RAUBER, R. H.; DILKIN, P.; MALLMANN, C. A. Dois planos de amostragem para análise de fumonisinas em milho. **Ciência Rural**, v. 43, n. 3, p. 551-558, mar. 2013.

MALLMANN, A. O.; MARCHIORO, A.; OLIVEIRA, M. S.; RAUBER, R. H.; DILKIN, P.; MALLMANN, C. A. Comparison of the efficiency between two sampling plans for aflatoxins analysis in maize. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 1, p. 35-42, 2014. DOI 10.1590/S1517-83822014000100006.

MALLMANN, A. O.; OLIVEIRA, M. S.; DILKIN, P.; VIDAL, J. K.; MEINERZ, G. R.; ALMEIDA, C. A. A.; MALLMANN, C. A. Assessment of mycotoxin contamination in maize and wheat stored in silos using two sampling processes. **World Mycotoxin Journal**, v. 11, n. 4, p. 531-538, 2018. DOI 10.3920/WMJ2018.2314.

MCMULLIN, D.; MIZAIKOFF, B.; KRSKA, R. Advancements in IR spectroscopic approaches for the determination of fungal derived contaminations in food crops. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 407, n. 3, p. 653-660, 2015. DOI 10.1007/s00216-014-8145-5.

MENEELY, J. P.; RICCI, F.; VAN EGMOND, H. P.; ELLIOTT, C. T. Current methods of analysis for the determination of trichothecene mycotoxins in food. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 2, p. 192-203, 2011. DOI 10.1016/j.trac.2010.06.012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (Brasil). Instrução normativa nº 38, de 30 de novembro de 2010. Estabelece o regulamento Técnico do Trigo. **Diário Oficial da União**, seção 1, n. 229, 01 p. 2-4, dez. 2010.

MIRAGLIA, M.; DE SANTIS, B.; MINARDI, V.; DEBEGNACH, F.; BRERA, C. The role of sampling in mycotoxin contamination: an holistic view. **Food Additives and Contaminants: part A**, v. 22, n. Sup1, p. 31-36, 2005. DOI 10.1080/02652030500389055.

MOTTA, T. P.; DUARTE, K. M. R. ELISA na detecção de aflatoxinas em alimentos. **Pubvet**, v. 4, n. 42, ed. 147, Art. 989, 2010.

PLEADIN, J.; VAHCIĆ, N.; PERSI, N.; ŠEVELJ, D.; MARKOV, K.; FRECE, J. Fusarium mycotoxins occurrence in cereals harvested from Croatian fields. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 49-54, July 2013. DOI 10.1016/j.foodcont.2012.12.002.

POJIĆ, M. M.; MASTILOVIĆ, J. S. Near Infrared Spectroscopy-Advanced analytical tool in wheat breeding, trade, and processing. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 2, p. 330-352, 2013. DOI 10.1007/s11947-012-0917-3.

ROSS, A. S.; BETTGE, A. D. Passing the test on wheat end-use quality. In: CARVER, B. F (Ed.). **Wheat science and trade**. Iowa, USA: Wiley-Blackwell, 2009. p. 455-493.

SHI, H.; YU, P. Exploring the potential of applying infrared vibrational (micro) spectroscopy in ergot alkaloids determination: Techniques, current status, and challenges. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 53, n. 5, p. 395-419, 2018. DOI 10.1080/05704928.2017.1363771.

STUART, B. H. **Infrared Spectroscopy: fundamentals and Applications**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2004. 244 p.

USDA. **FGIS Performance Verified Aflatoxin Test Kits – Effective 01/17/2020**. Washington: GIPSA, 2020. 4 p. Disponível em: <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/FGISA-approvedMycotoxinRapidTestKits.pdf>. Acesso em: 18 jan. 2020.

WANG, Y. K.; SHI, Y. B.; ZOU, Q.; SUN, J. H.; CHEN, Z. F.; WANG, H.; LI, S. Q.; YAN, Y. X. Development of a rapid and simultaneous immunochromatographic assay for the determination of zearalenone and fumonisin B1 in corn, wheat and feedstuff samples. **Food Control**, v. 31, n. 1, p. 180-188, May 2013. DOI 10.1016/j.foodcont.2012.09.048.

WHITAKER, T. B. Sampling food for mycotoxins. **Food Additives & Contaminants**, v. 23, n. 1, p. 50-61, 2006. DOI 10.1080/02652030500241587.

WHITAKER, T. B.; SLATE, A. B.; DOKO, M. B.; MAESTRONI, B. M.; CANNAVAN, A. **Sampling procedures to detect mycotoxins in agricultural commodities**. New York: Springer. 2011. 58 p.

WILLIAMS, P. GRAINS AND SEEDS. IN: OZAKI, Y.; MCCLURE, W. F.; CHRISTY, A. A. (Ed.). **Near-infrared spectroscopy in food science and technology**. 1st ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. 2007. p. 281-304.

XU, Y.; HUANG, Z. B.; HE, Q.; DENG, S. Z.; LI, L. S.; LI, Y. Development of an immunochromatographic strip test for the rapid simultaneous detection of deoxynivalenol

and zearalenone in wheat and maize. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 834-839, 2010. DOI 10.1016/j.foodchem.2009.08.049.

ZHENG, M. Z.; RICHARD, J. L.; BINDER, J. A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. **Mycopathologia**, v. 161, n. 5, p. 261-273, 2006. DOI 10.1007/s11046-006-0215-6.

Introdução

O trigo é um dos grãos mais importantes do mundo e é usado, principalmente, na alimentação humana, participando de diversos alimentos que são consumidos em, praticamente, todas as refeições. O comércio de trigo é baseado em padrões de classificação que consideram características físicas e parâmetros de qualidade de moagem e de aptidão de uso final. Assim, a presença de materiais estranhos, grãos quebrados, grãos danificados e outros defeitos são importantes para determinar se o trigo atende à regulamentação oficial. A giberela prejudica diretamente a produtividade da lavoura, pois os grãos afetados apresentam-se com tamanho reduzido (chochos), leves, rosados e danificados (Figura 1A).

A giberela do trigo é uma doença que tem grande impacto na redução da produção de grãos de trigo em todo o mundo, e também no prejuízo que pode causar à saúde de animais e de pessoas, pela produção de micotoxinas (McMullen et al., 2012). Micotoxinas são compostos químicos tóxicos produzidos pelo metabolismo secundário de espécies de fungos toxigênicos, que podem afetar as culturas, especialmente os cereais, na fase de produção e de armazenamento.

O trigo utilizado para consumo humano, no Brasil, pode conter uma ou mais micotoxinas produzidas por *Fusarium* spp., sendo deoxinivalenol (DON), a mais comumente encontrada e de mais altas concentrações detectadas (Del Ponte et al., 2015). Nivalenol (NIV) e zearalenona (ZEA) também foram relatados, em frequências menores. Muitos fatores influenciam no acúmulo de micotoxinas durante a estação de crescimento do trigo, como condições climáticas, rotação de culturas, preparo do solo, resistência da cultivar e controle químico com fungicidas (Bianchini; Stratton, 2018).

Foto: Casiane Salete Tibola



Figura 1. Grãos de trigo com e sem sintomas de giberela. Tamanho reduzido (chochos), leves, branco-rosados e danificados (A). Grãos de trigo saudáveis (B).

As estratégias de controle da giberela na fase de produção não garantem, em algumas safras, a prevenção da contaminação. Micotoxina é contaminante químico natural inerentemente estável; entretanto, processos de limpeza, de seleção, de polimento e de moagem, além dos diferentes métodos de processamento de grãos de trigo, podem alterar suas concentrações (Scudamore, 2018). Portanto, estratégias de manejo na pós-colheita são importantes para reduzir a contaminação, contribuindo para a produção de alimentos mais seguros.

Devido à contaminação do trigo e de produtos derivados por micotoxinas, a compreensão de fatores que influenciam sua distribuição após o uso de processos pós-colheita é de fundamental importância, para definir previamente o destino final de lotes de trigo. Este capítulo sumariza os principais efeitos dos métodos físicos na limpeza, seleção, polimento e moagem, contribuindo para que a cadeia produtiva do trigo atenda aos níveis da legislação atual e futura referente à redução da exposição dos consumidores à contaminação por micotoxinas. A minimização desta contaminação e o aumento da disponibilidade de produtos derivados de trigo integrais, pela adoção de

tecnologias de processamento, contribuem para a disponibilidade de alimentos mais seguros e saudáveis.

Efeito de processos de limpeza, de seleção e de classificação na distribuição de micotoxinas em trigo

Na pós-colheita de trigo, métodos físicos são usados para limpar, separar e classificar os grãos com base em uniformidade, peso, tamanho e forma. Os equipamentos mais utilizados são:

- Máquina de pré-limpeza: máquina de ar e peneiras, com até duas peneiras e um sistema de ventilação. A pré-limpeza tem, por finalidade, eliminar as impurezas mais grosseiras, maiores ou menores do que os grãos, facilitando o transporte, a secagem e as demais operações de beneficiamento na pós-colheita.
- Máquina de ar e peneiras: possui três ou mais peneiras e dois sistemas de ventilação. Normalmente tem quatro peneiras que se alternam, em dimensionamento. Nesta etapa de limpeza são descartados grãos leves, com tamanho reduzido (chochos), quebrados e danificados.
- Mesa de gravidade: é utilizada para a separação por diferença de peso específico entre os grãos e as impurezas. Nesta etapa, a classificação de grãos é realizada em função do tamanho e da densidade. Normalmente, grãos de trigo giberelados apresentam menor densidade quando comparados aos grãos sadios.
- Seleccionador óptico (para coloração e propriedades químicas): a classificação de grãos é realizada por câmaras bicromáticas (no espectro de luz visível) e por câmaras com sensores InGaAs (espectro no infravermelho próximo), que reconhecem substâncias estranhas e falhas no produto através de combinação de diversos parâmetros, como forma, tamanho e cor. Shen et al. (2019) propuseram a aplicação *on-line* de seccionador óptico para identificação de grãos de trigo infectados por fungos toxigênicos e obtiveram classificação correta de 91,7% das espécies *Fusarium* spp. e *Alternaria* spp.

Outros equipamentos disponíveis para a limpeza de grãos e sementes na pós-colheita são: separadores por comprimento (*trieur*) e separador em espiral (que segrega grãos com diferentes formatos).

Para evitar riscos à saúde, os grãos com sintomas de giberela devem ser removidos antes de serem processados e incorporados aos alimentos destinados

ao consumo. A limpeza adequada é considerada de importância crucial para reduzir as concentrações de micotoxinas em lotes de trigo, removendo os grãos altamente contaminados durante o estágio inicial do beneficiamento pós-colheita (Schaarschmidt; Fauhl-Hassek, 2018). No entanto, o efeito da limpeza apresenta grande variação. Para DON, foram reportadas reduções de 7% a 90%, comparando com o lote antes do processo de limpeza (Schaarschmidt; Fauhl-Hassek, 2018). Os principais fatores que influenciam no efeito de métodos físicos são: a condição inicial do grão (homogeneidade de tamanho e de teor de umidade), a regulação da colhedora e de equipamentos de limpeza e de classificação e o tipo e a extensão da contaminação (Edwards et al., 2011; Cheli et al., 2013). O rigor no descarte de grãos na limpeza, que está relacionado com aspectos econômicos, determina, em grande parte, a eficiência na redução dos níveis de micotoxinas nos lotes de trigo.

De acordo com requisitos técnicos para certificação de unidade armazenadora, no Brasil, é obrigatória a disponibilização de equipamentos para processamento de limpeza, secagem e armazenagem no recebimento primário de grãos (Agência..., 2011). Para trigo, o processo de limpeza mais utilizado é o sistema de ar e peneira. No País, normalmente, o trigo é submetido a fases de pré-limpeza e de limpeza após a colheita, antes do armazenamento em silos. Em alguns casos, os lotes de trigo são submetidos a um segundo processo de limpeza, antes da moagem.

Dependendo do nível de exigência do mercado, alguns lotes de grãos também são selecionados de acordo com o peso específico. A mesa de gravidade é utilizada principalmente para a seleção de sementes, mas também pode ser útil na seleção de grãos quando o objetivo é a produção de farinha de trigo integral, rica em compostos fenólicos e antioxidantes, mas que pode conter os maiores níveis de contaminantes naturais e sintéticos. Como o nível de DON em derivados de trigo destinados à produção de alimentos infantis é baixo (200 ppb), neste caso a mesa de gravidade também pode ser útil na obtenção de maior proporção de grãos sadios, com menores teores de micotoxinas.

Os processos de limpeza são altamente variáveis na redução dos níveis de micotoxinas. Tibola et al. (2016) reportaram que os processos de limpeza e de seleção na mesa de gravidade promoveram remoção de grãos de trigo com sintomas de giberela, reduzindo significativamente a contaminação de DON, em duas cultivares (BRS Parrudo e BRS 374). O descarte de grãos na limpeza e na mesa de gravidade foi de 28% e de 33%, respectivamente, para BRS Parrudo e BRS 374. Na fração de trigo integral moído, os níveis de contaminação por DON diminuíram de 2.038 ppb para

515 ppb (BRS Parrudo) e de 4.080 ppb para 454 ppb (BRS 374), após os processos de limpeza e mesa de gravidade (Figura 2). As frações de moagem destinadas ao consumo humano apresentaram níveis menores de contaminação por micotoxinas, quando comparadas com trigo integral moído e com farelo de trigo. A redução média da contaminação de DON foi de 57% na farinha branca para ambas as cultivares, e houve aumento de 117% nos níveis de DON no farelo.

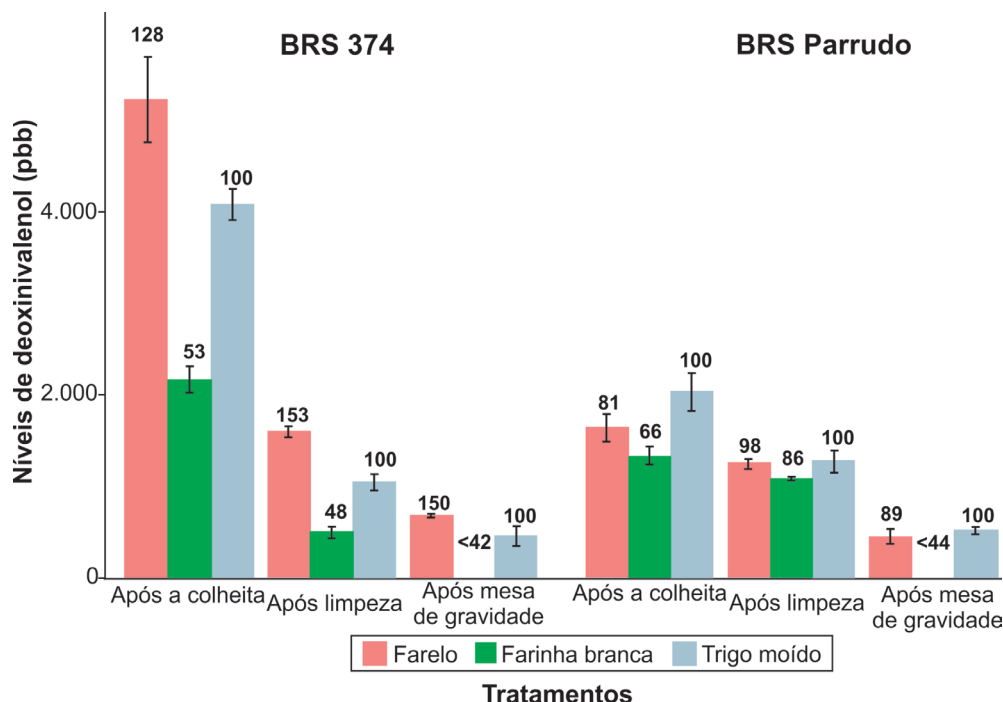


Figura 2. Efeito dos processos de limpeza, seleção e moagem em níveis de deoxinivalenol (DON) em frações de moagem das cultivares de trigo BRS 374 e BRS Parrudo. Números acima das barras são os fatores de distribuição (%), que representam a redução ou o aumento no nível de DON nas frações de moagem, quando comparado com o trigo moído (corresponde a 100%).

Fonte: Tibola et al. (2016).

Cheli et al. (2013) revisaram o efeito de processos físicos e mecânicos e relataram que as reduções de micotoxinas no trigo após a limpeza variaram de 7% a 63% para DON, de 7% a 100% para NIV e de 7% a 40% para ZEA, quando comparadas com os níveis iniciais antes dos processos de limpeza. Edwards et al. (2011) relataram redução significativa de 7% no teor de DON no trigo limpo em comparação com o trigo antes da limpeza. Após a adoção de um vigoroso processo de limpeza, foi obtida redução de 50% do nível de DON no trigo (Scudamore; Patel, 2008). A limpeza dos

grãos de trigo resultou em redução de DON de 20% a 30%, quando comparado com o nível original na matéria-prima (Kostelanska et al., 2011).

Em geral, além de remover impurezas, o processo de limpeza reduz as toxinas de *Fusarium* spp., considerando que o tamanho reduzido do grão é um sintoma característico de infecção por giberela. Entretanto, grãos de trigo com aparência próxima do normal (assintomáticos) também podem estar infectados e, assim, contribuir com a contaminação. Estes grãos assintomáticos não são removidos nas etapas de limpeza tradicionais; neste caso, a seleção óptica é uma alternativa. A seleção óptica possibilita a separação de grãos de acordo com tamanho, formato, defeitos e características espectrais, correlacionados com danos por *Fusarium* spp. e com altas concentrações de micotoxinas (Schaarschmidt; Fauhl-Hassek, 2018).

No entanto, a redução dos níveis de micotoxinas não pode depender apenas dos estágios iniciais do processamento pós-colheita, porque as infecções tardias nem sempre afetam a qualidade, o tamanho e a aparência dos grãos de trigo. Além disso, se os níveis iniciais de micotoxinas estiverem muito altos, mesmo procedimentos rigorosos de limpeza e de classificação podem não ser suficientes para reduzir os níveis de toxinas abaixo dos limites legais (Dexter; Wood, 1996). É importante associar estratégias para minimizar os níveis de contaminação em todas as etapas. Outras estratégias de manejo para minimizar a contaminação por micotoxinas nos grãos e produtos derivados no armazenamento são: promover a rápida e eficiente secagem dos grãos no recebimento na unidade armazenadora, adotar o manejo integrado de insetos-praga e estabelecer monitoramento sistemático, através de métodos eficazes e rápidos, que permitam orientar o manejo e logística dos lotes no recebimento na unidade armazenadora.

Efeito do processo de polimento nos níveis de micotoxinas em produtos derivados de trigo

A farinha de trigo integral é boa fonte de fibras alimentares e de antioxidantes, que podem promover benefícios à saúde prevenindo a ocorrência de doenças crônicas, geralmente associadas ao estresse oxidativo (Yu, 2008). As principais vantagens do consumo de produtos integrais derivados de trigo incluem o aumento do bolo fecal, o que colabora para melhoria da função intestinal, o prolongamento da sensação de saciedade, além da redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas (Vidal et al., 2016).

No entanto, a presença de contaminantes naturais e sintéticos nas camadas mais externas dos grãos representa um risco para a segurança do alimento e deve ser considerada (Zanoletti et al., 2017). O farelo é a fração de trigo mais contaminada com DON e a mais amplamente empregada para produzir alimentos para animais e como matéria-prima para produtos alimentares integrais (Khaneghah et al., 2018). Na moagem, o farelo é removido, mas esta fração concentra compostos bioativos com alto potencial nutricional (Ciccoritti et al., 2017).

O processo de polimento superficial tem sido recomendado como estratégia para reduzir a concentração de contaminantes superficiais (micotoxinas e resíduos de agrotóxicos), preservando as frações enriquecidas com compostos bioativos, dentre os quais os compostos fenólicos (Bordiga et al., 2016). O polimento consiste em fricção leve (grão a grão) e abrasão (grãos contra uma superfície áspera), e pode representar uma estratégia eficiente para maximizar os benefícios de alimentos à base de cereais (Ciccoritti et al., 2017). Beta et al. (2005) afirmaram que o polimento é uma técnica eficaz para obter frações de farelo de trigo enriquecidas em compostos fenólicos e antioxidantes. O grau de polimento (raspagem superficial) pode ser cuidadosamente modulado para retirar as frações mais externas (que concentram contaminantes e fibras grossas) das frações intermediárias (que oferecem benefícios potencialmente altos à saúde) (Sovrani et al., 2012; Blandino et al., 2013; Giordano et al., 2017).

Tibola et al. (2019) observaram que o conteúdo de DON na farinha de trigo integral diminuiu, em média, 25%, 31% e 31% nos tempos de polimento de 15 s, 30 s e 60 s, respectivamente, em comparação com amostras sem polimento. O polimento reduziu o teor de DON significativamente na farinha integral com níveis de contaminação de 1.032 ppb e de 1.174 ppb obtidos no Paraná e no Rio Grande do Sul, respectivamente (Figura 3). No estado de Santa Catarina, o nível médio de DON foi de 2.228 ppb, após cada etapa do polimento foi registrada redução nos níveis de contaminação, entretanto esta redução não foi estatisticamente significativa (Figura 3). O nível mais alto de contaminação por DON foi encontrado nas amostras não polidas e na fração mais externa (taxa de extração >95%), correspondendo ao tempo de polimento de 15 s (Figura 3). Os tempos consecutivos de polimento foram efetivos na redução dos níveis de DON em amostras do Paraná e do Rio Grande do Sul apenas até 30 s; após esse período, o polimento não apresentou aumento de eficiência (Figura 3).

Tibola et al. (no prelo) avaliaram o efeito de tempo de polimento (20 s e 40 s) em níveis de DON e em compostos bioativos (compostos fenólicos e atividade antioxidante) em três cultivares de trigo. O processo de polimento reduziu significativamente os níveis

de DON nas farinhas de trigo integral, nas cultivares BRS Marcante, BRS Reponte e BRS 374 (Figura 4). A concentração de DON diminuiu 22% no tratamento de 20 s, com descarte de 1% de farelo. Outra redução significativa nos níveis de DON, considerando a média das três cultivares, também foi obtida no tratamento polimento 40 s (28%), quando comparado ao tratamento não polido (Figura 4). Os níveis de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante foram notavelmente mais altos nas farinhas de trigo integral, em comparação às farinhas brancas. Assim, concluíram que o processo de polimento contribuiu para a produção de trigo mais seguro e saudável, reduzindo os níveis de DON e conservando os compostos bioativos.

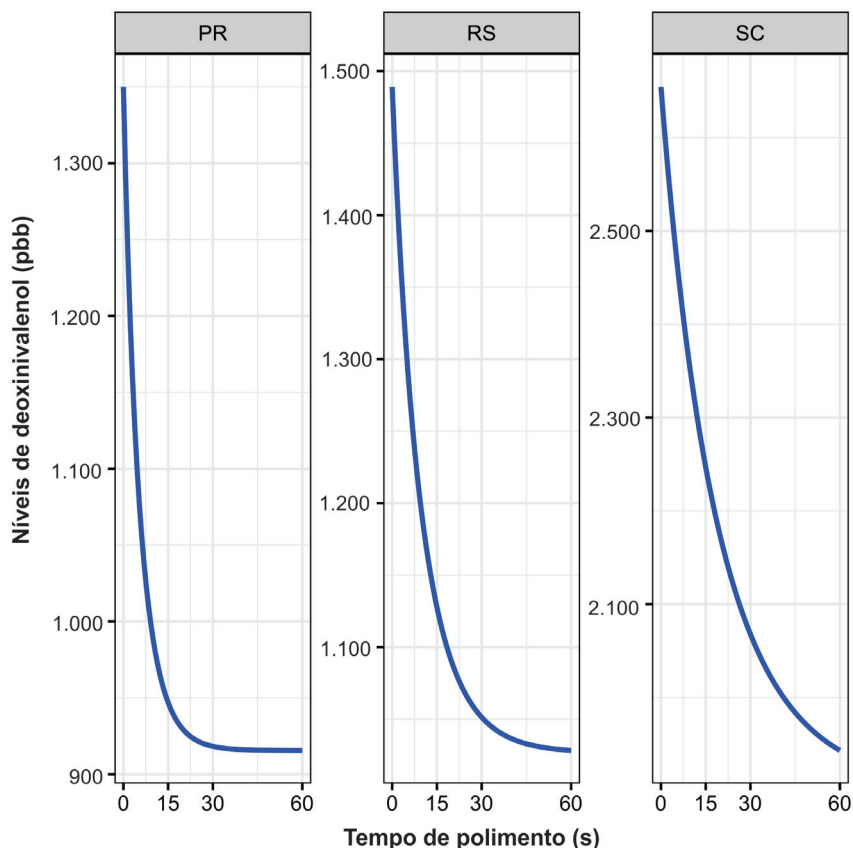


Figura 3. Curvas ajustadas para níveis de deoxinivalenol em farinha de trigo integral obtida nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, após tempo de polimento de grãos de 15 s, 30 s e 60 s.

Fonte: Tibola et al. (2019).

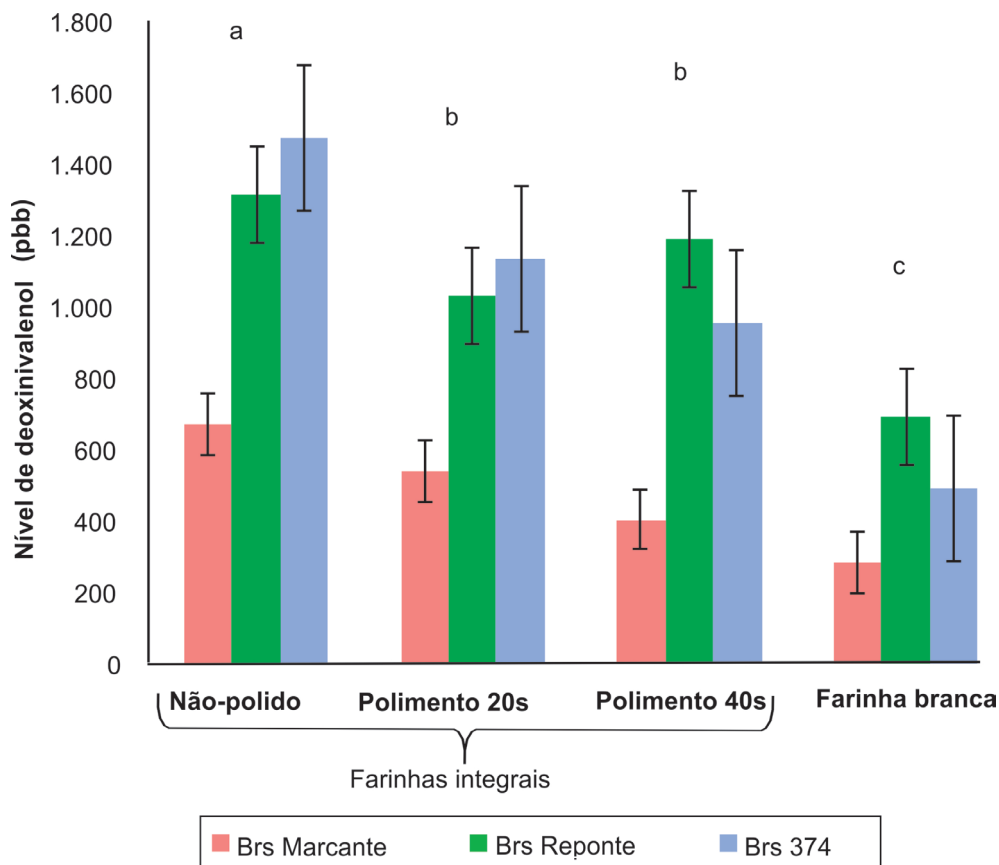


Figura 4. Efeito do processo de polimento de grãos nos níveis de deoxinivalenol em farinhas de trigo branca e integral das cultivares BRS Marcante, BRS Reponete e BRS 374.

Fonte: Tibola et al., no prelo¹.

Efeito do processo de moagem na distribuição de micotoxinas em produtos derivados de trigo

O processo de moagem tradicional envolve uma sequência de quebra (separação do farelo, do gérmen e do endosperma), redução da fração endosperma (tamanhos de partículas uniformes) e separação (farinha branca e farelo). Na moagem de trigo, as micotoxinas tendem a se concentrar nas frações externas (farelo e farelinho) e a

¹ TIBOLA, C.S.; FONTES, M.R.V.; MIRANDA, M.Z. de; DEVOS, R.J.B.; DIAS, A.R.G.; BOCK, E.; ZAVAREZE, E. da R. Deoxynivalenol content, phenolic compounds, and antioxidant activity of wheat flour after debranning process. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.55, e01851, 2020. DOI 10.1590/S1678-3921.pab2020.v55.01851.

serem reduzidas nas frações internas destinadas ao consumo humano (farinha ou sêmola) (Cheli et al., 2013). Em estudo conduzido por Bianchini et al. (2015), pode ser verificado o efeito da moagem na remoção e na distribuição de DON em grãos de trigo.

No entanto, esse padrão de distribuição é altamente variável, dependendo do tipo de micotoxina, das características químicas, da cultivar de trigo, do nível de contaminação por fungos e do método de moagem (Cheli et al., 2013). Outro fator que influencia na contaminação por micotoxinas é a inibição da biossíntese de micotoxinas em determinadas frações, dependendo do tipo de trigo, da cultivar e de condições pré- e pós-colheita (Schaarschmidt; Fauhl-Hassek, 2018).

Edwards et al. (2018) relataram que processos de umedecimento e de secagem sequenciais podem causar movimento do DON, promovendo o equilíbrio entre as frações de moagem. Além disso, altos níveis de precipitação podem causar redução substancial de DON no grão, predominantemente na fração de farelo, resultando em aumento proporcional na farinha branca. Edwards et al. (2011) relataram que a concentração de DON nas frações da farinha foi equivalente à do trigo moído; com menor concentração nas camadas externas (farelo), em trigo colhido em safra com alta precipitação na etapa de pré-colheita. Segundo os autores, esse comportamento inesperado resultou do movimento de DON para as camadas internas devido à alta solubilidade de DON em água.

Tibola et al. (2015) avaliaram o efeito do processo de moagem no teor de micotoxinas de *Fusarium* spp. em trigo contaminado artificialmente, utilizando seis níveis de contaminação por DON (de >200 ppb a >3.000 ppb). Parte de cada amostra de trigo foi moída para obter a fração de trigo integral moído, e outra parte foi condicionada a 14% de umidade e moída com configuração padrão para trigo (American..., 2000), obtendo-se as frações farinha branca e farelo. O teor de DON nas frações farinha branca e farelo aumentou exponencialmente em relação aos níveis iniciais de DON no trigo moído (Figura 5). Considerando-se todos os níveis de contaminação inicial, as concentrações de DON na farinha branca foram reduzidas em 19%; em contrapartida, aumentaram em 125% no farelo, quando comparadas com trigo integral moído. O padrão de distribuição (percentual de redução ou aumento do nível de DON, quando comparado com o trigo moído) foi variável, principalmente para a fração de farinha branca, na qual os níveis de DON foram reduzidos em 43% no nível 2 (201 ppb a 500 ppb) e apenas em 11% no nível de contaminação mais elevado (>3.000 ppb). Nos gradientes com contaminação inicial mais baixa (<1.000 ppb), a concentração de DON foi significativamente maior no

farelo, quando comparada com o trigo moído e a farinha branca (Figura 5). Os autores concluíram que o processo de moagem de trigo não pode ser utilizado como ferramenta isolada para reduzir a contaminação de DON na farinha branca, especialmente nos lotes com altos níveis de contaminação (>1.500 ppb).

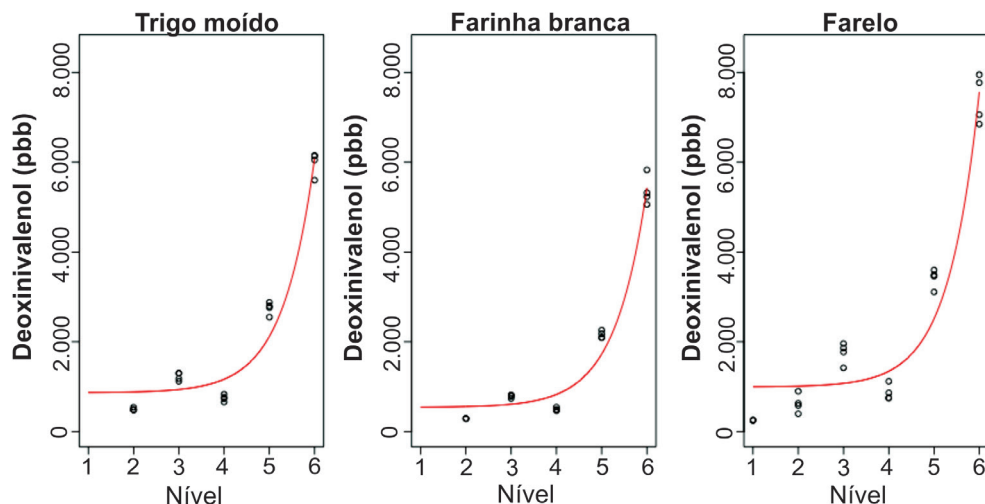


Figura 5. Efeito do processo de moagem nos níveis de deoxinivalenol em frações de trigo contaminado artificialmente, utilizando seis níveis de contaminação por DON (de >200 ppb a >3.000 ppb). Os pontos representam os valores observados e a linha contínua é a curva exponencial ajustada aos dados.

Fonte: Tibola et al. (2015).

Outros trabalhos relataram a redução de DON na farinha branca e a concentração no farelo. Savi et al. (2016) avaliaram a distribuição natural de DON no processo de moagem de trigo, o farelo apresentou a maior concentração média (2.278 ppb), seguido de trigo moído (1.895 ppb) e de farinha (1.305 ppb). Edwards et al. (2011) obtiveram redução da contaminação de DON de 22% na farinha e aumento de 162% no farelo durante a safra de 2005 em comparação com o trigo integral moído (1.209 ppb), usando moinho em escala piloto. A concentração relativa de DON na farinha branca foi de 60% e de 180% no farelo, em comparação com os níveis iniciais de trigo moído integral (Nishio et al., 2010).

Considerações finais

As micotoxinas são substâncias tóxicas produzidas por algumas espécies de fungos, que podem ocasionar efeitos adversos na saúde humana e animal. Na pós-colheita de grãos de trigo, os processos físicos de limpeza, de classificação, de polimento e de moagem determinam a distribuição destas substâncias nos produtos derivados de trigo. O efeito desses processos foi determinado em inúmeros estudos, que indicaram a redução dos níveis de micotoxinas ou a redistribuição destes contaminantes em diferentes frações de moagem. Entretanto, devido à alta prevalência e à distribuição heterogênea das micotoxinas, há demanda para mais estudos, visando a minimizar a contaminação nos alimentos. Adicionalmente, devem ser incluídas as micotoxinas emergentes, que apresentam potencial de serem regulamentadas, em função de sua frequência e toxicidade para humanos e animais.

Referências

- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods of Analysis**, 10th ed.. St. Paul: AACCI International Method 26-10A. Experimental milling: introduction, equipment, sample preparation, and tempering. Approved November 8, 2000.
- BETA, T.; NAM, S.; DEXTER, J. E.; SAPIRSTEIN, H. D. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. **Cereal Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 390–393, July/Aug. 2005. DOI 10.1094/CC-82-0390.
- BIANCHINI, A.; HORSLEY, R.; JACK, M. M.; KOBIELUSH, B.; RYU, D.; TITTELMIER, S.; WILSON, W. W.; ABBAS, H. K.; ABEL, S.; HARRISON, G.; MILLER, J. D.; SHIER, W. T.; WEAVER, G.; KATZKE, D.; MAIER, D. E.; PESTKA, J.; BOROUGHS, B.; BRIDGES, A. R. DON occurrence in grains: a north american perspective. **Cereal Foods World**, v. 60, n. 1, p. 32–56, Jan./Feb. 2015. DOI 10.1094/CFW-60-1-0032.
- BIANCHINI, A.; STRATTON, J. E. Spoilage of Plant Products: Cereals and Cereal Flours. **Reference Module in Food Science**, Dec. 2018. DOI 10.1016/B978-0-08-100596-5.22684-X.
- BORDIGA, M.; LOCATELLI, M.; TRAVAGLIA, F.; ARLORIO, M.; REYNERI, A.; BLANDINO, M.; COÏSSON, J. D. Alkylresorcinol content in whole grains and pearled fractions of wheat and barley. **Journal of Cereal Science**, v. 70, p. 38–46, July 2016. DOI 10.1016/j.jcs.2016.05.017.
- BLANDINO, M.; SOVRANI, V.; MARINACCIO, F.; REYNERI, A.; ROLLE, L.; GIACOSA, S.; LOCATELLI, M.; BORDIGA, M.; TRAVAGLIA, F.; COÏSSON, J. D.; ARLORIO, M. Nutritional

and technological quality of bread enriched with an intermediated pearled wheat fraction. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 2549–2557, Dec. 2013. DOI 10.1016/j.foodchem.2013.04.122.

CICCORITTI, R.; TADDEI, F.; NICOLETTI, I.; GAZZA, L.; CORRADINI, D.; D'EGIDIO, M. G.; MARTINI, D. Use of bran fractions and debranned kernels for the development of pasta with high nutritional and healthy potential. **Food Chemistry**, v. 225, p. 77–86, 2017. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.01.005.

CHELI, F.; PINOTTI, L.; ROSSI, L.; DELL'ORTO, V. Effect of milling procedures on mycotoxin distribution in wheat fractions: a review. **LWT. Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 307–314, 2013. DOI 10.1016/j.lwt.2013.05.040.

DEL PONTE, E. M.; SPOLTI, P.; WARD, T. J.; GOMES, L. B.; NICOLLI, C. P.; KUHNEM, P. R.; SILVA, C. N.; TESSMANN, D. J. Regional and field-specific factors affect the composition of *Fusarium* head blight pathogens in subtropical no-till wheat agroecosystem of Brazil. **Phytopathology**, v. 105, n. 2, p. 246–254, Feb. 2015. DOI 10.1094/PHYTO-04-14-0102-R.

DEXTER, J. E.; WOOD, P. J. Recent applications of debranning of wheat before milling. **Trends in Food Science & Technology**, v.7, p. 35–41, n. 2, Feb. 1996. DOI 10.1016/0924-2244(96)81326-4.

EDWARDS, S. G.; DICKIN, E. T.; MACDONALD, S.; BUTTLER, D.; HAZEL, C. M.; PATEL, S.; SCUDAMORE, K. A. Distribution of *Fusarium* mycotoxins in UK wheat mill fractions. **Food Additives and Contaminants. Part A, Chemistry, analyses, control, exposure & risk, assessment**, v. 28, n. 2, p. 1694–1704, Dec. 2011. DOI 10.1080/19440049.2011.605770.

EDWARDS, S. G.; KHARBIKAR, L. L.; DICKIN, E. T.; MACDONALD, S.; SCUDAMORE, K. A. Impact of pre-harvest rainfall on the distribution of *Fusarium* mycotoxins in wheat mill fractions. **Food Control**, n. 89, p. 150–156, 2018. DOI 10.1016/j.foodcont.2018.02.009.

GIORDANO, D.; LOCATELLI, M.; TRAVAGLIA, F.; BORDIGA, M.; REYNERI, A.; COÏSSON, J. D.; BLANDINO, M. Bioactive compound and antioxidant activity distribution in roller-milled and pearled fractions of conventional and pigmented wheat varieties. **Food Chemistry**, v. 233, p. 483–491, Oct. 2017. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.04.065.

KHANEGHAH, A. M.; MARTINS, L. M.; HERTWIG, A. M. VON.; BERTOLDO, R.; SANT'ANA, A. S. Deoxynivalenol and its masked forms: Characteristics, incidence, control and fate during wheat and wheat-based products processing - A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 13–24, Jan. 2018. DOI 10.1016/j.tifs.2017.10.012.

KOSTELANSKA, M.; DZUMAN, Z.; MALACHOVA, A.; CAPOUCHOVA, I.; PROKINOVA, E.; SKERIKOVA, A.; HAJSLOVA, J. Effects of milling and baking technologies on levels of

deoxynivalenol and its masked form deoxynivalenol-3-glucoside. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n.17, p. 9303-9312, July 2011. DOI 10.1021/jf202428f.

MCMULLEN, M.; BERGSTROM, G.; WOLF, E. de.; DILL-MACKY, R.; HERSHMAN, D.; SHANER, G.; SANFORD, D. V. A Unified Effort to Fight an Enemy of Wheat and Barley: *Fusarium* Head Blight. **Plant Disease**, v. 96, n. 12, p. 1712-1728, Dec. 2012. DOI 10.1094/PDIS-03-12-0291-FE.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (Brasil). Instrução Normativa nº 29, de 09 de junho de 2011. Aprovar os requisitos técnicos obrigatórios ou recomendados para certificação de unidades armazenadoras em ambiente natural e o regulamento de avaliação da conformidade das unidades armazenadoras. **Diário Oficial da União**, seção 1, 9 jun. 2011.

NISHIO, Z.; TAKATA, K.; ITO, M.; TANIO, M.; TABIKI, T.; YAMAUCHI, H.; BAN, T. Deoxynivalenol distribution in flour and bran of spring wheat lines with different levels of *Fusarium* head blight resistance. **Plant Disease**, v. 94, n. 3, p. 335-338, March 2010. DOI 10.1094/PDIS-94-3-0335.

SAVI, G. D.; PIACENTINI, K. C.; TIBOLA, C. S.; SANTOS, K.; SOUSA M. G.; SCUSSEL, V. M. Deoxynivalenol in the wheat milling process and wheat-based products and daily intake estimates for the Southern Brazilian population. **Food Control**, v.62, p. 231-236, April 2016. DOI 10.1016/j.foodcont.2015.10.029.

SCHAARSCHMIDT, S.; FAUHL-HASSEK, C. The fate of mycotoxins during the processing of wheat for human consumption. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 3, p. 556–593, March 2018. DOI 10.1111/1541-4337.12338.

SCUDAMORE, K. A. Fate of *Fusarium* mycotoxins in the cereal industry: recent UK studies. **World Mycotoxin Journal**, v. 1 n. 3, p. 315-323, 2018. DOI 10.3920/WMJ2008.x034.

SCUDAMORE, K. A.; PATEL, S. The fate of deoxynivalenol and fumonisins in wheat and maize during commercial breakfast cereal production. **World Mycotoxin Journal**, v. 1, n. 4, p. 437-448, Oct. 2008. DOI 10.3920/WMJ2008.1059.

SHEN, F.; ZHAO, T.; JIANG, X.; LIU, X.; FANG, Y.; LIU, Q.; HU, Q.; LIU, X. On-line detection of toxigenic fungal infection in wheat by visible/near infrared spectroscopy. **LWT**, v. 109, p. 216-224, July 2019. DOI 10.1016/j.lwt.2019.04.019.

SOVRANI, V.; BLANDINO, M.; SCARPINO, V.; REYNERI, A.; COÏSSON, J. D.; TRAVAGLIA, F.; LOCATELLI, M.; BORDIGA, M.; MONTELLA, R.; ARLORIO, M. Bioactive compound content, antioxidant activity, deoxynivalenol and heavy metal contamination

of pearled wheat fractions. **Food Chemistry**, v. 135, p. 39–46, Oct. 2012. DOI 10.1016/j.foodchem.2012.04.045.

TIBOLA, C. S.; FERNANDES, J. M. C.; GUARIENTI, E. M.; NICOLAU, M. Distribution of *Fusarium* mycotoxins in wheat milling process. **Food Control**, v. 53, p. 91–95, July 2015. DOI 10.1016/j.foodcont.2015.01.012.

TIBOLA, C. S.; FERNANDES, J. M. C.; GUARIENTI, E. M. Effect of cleaning, sorting and milling processes in wheat mycotoxin content. **Food Control**, v. 60, p. 174–179, Feb. 2016. DOI 10.1016/j.foodcont.2015.07.031.

TIBOLA, C. S.; GUARIENTI, E. M.; DIAS, A. R. G.; NICOLAU, M.; DEVOS, R. J. B.; TEIXEIRA, D. D. Effect of debranning process on deoxynivalenol content in whole-wheat flours. **Cereal Chemistry**, v. 96, p. 717–724, 2019. DOI 10.1002/cche.10168.

VIDAL, A.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J.; MARÍN, S. The fate of deoxynivalenol through wheat processing to food products. **Current Opinion in Food Science**, v. 11, p. 34–39, 2016. DOI 10.1016/j.cofs.2016.09.001.

YU, L. Wheat antioxidants. Hoboken: John Wiley & Sons; New Jersey: Wiley-Interscience, 2008. ZANOLETTI, M.; PARIZAD, P. A.; LAVELLI, V.; CECCHINI, C.; MENESATTI, P.; MARTI, A.; PAGANI, M. A. Debranning of purple wheat: recovery of anthocyanin-rich fractions and their use in pasta production. **Food Science and Technology**, v. 75, p. 663–669, 2017. DOI 10.1016/j.lwt.2016.10.016.

Capítulo 7

Níveis de micotoxinas em produtos derivados de trigo: alimentos extrusados, panificação e massas frescas

Liliana O. Rocha
Sabina M. Tralamazza
Luísa Freire
Casiane Salete Tibola

Introdução

Os cereais e seus produtos derivados são ricos em carboidratos, proteínas, gorduras, fibras, minerais e vitaminas e, além disso, possuem pH próximo à neutralidade, propiciando o crescimento microbiano. No entanto, a redução da atividade de água (a_w) no pré-processamento dos grãos, previne o crescimento da maioria das bactérias, prevalecendo os fungos filamentosos. Estes podem ser toxigênicos e produzir micotoxinas nos grãos durante o pré-colheita ($a_w \approx 0,90$) e pós-colheita ($a_w \geq 0,60$). Dentre os fungos toxigênicos, diversos estudos relatam a presença dos gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* (Pitt; Hocking, 2009). No trigo, destaca-se o complexo de espécies *Fusarium graminearum*, com prevalência das micotoxinas deoxinivalenol (DON), nivalenol (NIV) e zearalenona (ZEA) (Del Ponte et al., 2015; Tralamazza et al., 2016).

Níveis de micotoxinas em alimentos extrusados: cereais matinais e ração animal

Os cereais matinais, snacks e algumas rações podem ser produzidas por extrusão termoplástica, que é um processo que combina umidade, temperatura e cisalhamento para obter produtos prontos para o consumo. As matérias-primas podem ser provenientes de grãos de cereais, incluindo o trigo, que serão moídos até grits, podendo ser integrais ou não. Na produção de farinhas refinadas ocorre a remoção do pericarpo, aleurona e germe, desta forma, ocasiona a redução nos níveis de DON, devido à separação das camadas externas do grão. Uma distribuição heterogênea da

micotoxina é observada e uma maior concentração é detectada na casca, utilizada principalmente para alimentação animal e no farelo utilizado para a produção de outros alimentos, como os cereais matinais (Kostelanska et al., 2011).

As rações são o principal custo nos sistemas intensivos de produção animal e, portanto, as condições de preparação e o processamento são controlados para fornecer uma dieta nutricional adequada. Além disso, o mercado de animais de companhia tem crescido no Brasil e, como consequência, a produção de *pet food* tem aumentado nos últimos anos (Teixeira et al., 2017). As rações têm como base, cereais (Gazzotti et al., 2015) e podem ser processadas de modo a alterar a forma física ou o tamanho das partículas, melhorar a palatabilidade, detoxificar o alimento ou impedir a deterioração, destacando a extrusão, utilizada para alimentos destinados, principalmente, ao mercado de animais de companhia (ICMSF, 2006).

A extrusão termoplástica é um processo versátil, considerado de menor custo que o de floculação de cereais. A mesma combina diversas operações unitárias e, os produtos, como cereais matinais expandidos e rações, passam por processos que consistem no uso de elevadas temperaturas (acima de 100 °C) e secagem para redução da umidade em níveis inferiores a 3%-10%, sendo que, estes podem afetar a estabilidade das micotoxinas presentes (Mercier et al., 1989; Oliveira et al., 2017).

A maioria das micotoxinas é considerada estável ao processamento. Estes compostos podem ser parcialmente removidos, associados com componentes do alimento ou degradados/transformados, através de processos químicos (tratamentos alcalinos e ácidos), processos físicos (tratamentos térmicos, descasque e moagem), e processos biológicos (fermentação e utilização de enzimas). Estas alterações podem resultar em metabólitos de toxicidade menor ou maior (Berthiller et al., 2013; Freire; Sant'Ana, 2018). A extrusão-cozedura se enquadra nos processos físicos de mitigação das micotoxinas, uma vez que elevadas temperaturas são utilizadas no processamento (Kaushik, 2015).

Estudos anteriores demonstraram o efeito da extrusão-cozedura na estabilidade das micotoxinas, porém a mitigação depende das características físico-químicas da matéria-prima e dos níveis iniciais de micotoxinas nas mesmas, além de fatores como: temperatura, pressão, umidade utilizada e presença de aditivos (Neme; Mohamed, 2017). Além disso, o efeito resultante da extrusão varia conforme a micotoxina estudada (Scudamore et al., 2008a).

Com relação à estabilidade das toxinas de *Fusarium*, diversos autores relataram efeitos distintos em matrizes alimentares diversas (Suman; Generotti, 2015). Neste sentido,

Cazzaniga et al., (2001) observaram mitigação de DON após extrusão do milho, com umidade entre 15%-30% e temperatura de 150-180 °C. Scudamore et al. (2008b) observaram baixo efeito da extrusão na estabilidade de DON, NIV e ZEA no trigo, considerando diferentes temperaturas e umidade utilizadas no processamento. Neste estudo, foi relatado que o aumento de temperatura não alterou o conteúdo destas micotoxinas, mas diferentes teores de umidade nas matérias-primas alteraram os níveis. Para DON, a maior redução (20,5%) foi observada quando a umidade do trigo foi reduzida a 15%. Este resultado indica uma possível ligação de DON aos constituintes do trigo, o que pode acarretar uma reduzida recuperação da toxina da matriz (Scudamore et al., 2008b).

A adição de sais também altera os níveis de micotoxinas recuperados após a extrusão. Accerbi et al. (1999) demonstraram mitigação de DON após extrusão de trigo previamente em contato com solução aquosa de bissulfito de sódio. Esta redução se deve à reação de DON com o sal, formando um sulfonato que é estável em meios ácidos, mas hidrolisado a DON em condições alcalinas. Devido às alterações sensoriais do alimento após a adição deste sal, sua utilidade é restrita à produção de ração animal (Jackson; Bullerman, 1999).

NIV apresenta semelhança estrutural com DON e são encontrados em menor concentração no trigo. Um único estudo sobre o efeito da extrusão do trigo em NIV demonstrou que a concentração desta micotoxina tende a aumentar após o processamento, possivelmente devido à conversão de suas formas conjugadas para livres, porém menores níveis são recuperados em amostras com umidade reduzida (15%) (Scudamore et al., 2008b).

Resultados controversos são observados na literatura para ZEA. Algumas pesquisas demonstram redução de até 83% em milho, com temperatura de 140 °C-160 °C (Suman; Generotti, 2015) e 69% em trigo, com temperatura de 200 °C por 60 minutos (Castells et al., 2005). Entretanto, outros demonstraram aumento da concentração em matérias-primas com umidade reduzida (15%-17%), efeito contrário ao observado para DON e NIV (Scudamore et al., 2008b). Em teoria, a redução nos níveis de ZEA em matérias-primas mais úmidas pode ser explicada devido a uma melhor transferência de calor na matriz (Castells et al., 2005).

Diferentes níveis de DON e ZEA têm sido reportados na literatura para cereais matinais e ração animal. Em países europeus, a contaminação por DON e ZEA em cereais matinais e *pet food* extrusados tem sido reportada, porém com baixa frequência e

níveis (Vendl et al., 2010; Montes et al., 2012; Gazzotti et al., 2015) e estes resultados refletem a qualidade da matéria-prima. Em países em desenvolvimento, onde os níveis presentes na matéria-prima são mais elevados, DON e ZEA podem ser encontrados no produto final, devido à estabilidade destas micotoxinas durante o processamento dos alimentos (Gazzotti et al., 2015). Apesar da extrusão contribuir na mitigação das micotoxinas, a prevenção da contaminação da matéria-prima ainda no campo e nas etapas que antecedem o processamento é a melhor forma de se reduzir os riscos da presença de micotoxinas em trigo e seus derivados.

O processo de panificação e os níveis de micotoxinas

O pão elaborado a partir da farinha de trigo é a principal fonte de nutrientes para a população mundial (Peña, 2002). No entanto, consumidores podem ser expostos a micotoxinas após a ingestão de alimentos contaminados (Monaci et al., 2015). No Brasil, Savi et al. (2016) relataram que 17% do pão integral e 10% dos biscoitos salgados estavam contaminados com DON em níveis médios de 437 ppb e 624 ppb, respectivamente.

As micotoxinas normalmente detectadas no trigo e derivados são termoestáveis e, portanto, não são completamente eliminadas ao longo dos processos alimentares (Vidal et al., 2015). O DON é estável a 120 °C, moderadamente estável a 180 °C, e é danificado apenas a 210 °C após 40 minutos (Kamimura, 1989). Já a ZEA é um composto quimicamente estável com um ponto de fusão de 164 °C -165 °C (European..., 2004).

Determinar os efeitos do processamento nos níveis de micotoxinas é crucial para estimar a exposição dos consumidores. Os principais fatores que afetam o destino das micotoxinas durante o processamento de alimentos são: a matriz alimentar, o pH, o teor de umidade, o tempo e temperatura de processamento, o tipo de contaminação (natural ou artificial) e os níveis de concentração das micotoxinas (Samar et al., 2001; Zhang; Wang, 2015; Wu e Wang, 2015).

A estabilidade das micotoxinas durante a panificação foi avaliada em diversos trabalhos, entretanto os resultados são contraditórios. Estas inconsistências ocorrem devido aos seguintes fatores: diferentes escalas (laboratoriais ou industriais), tamanho dos produtos, ingredientes, tempo e temperatura do cozimento, diferentes etapas do processo e a formação de micotoxinas modificadas (Vidal et al., 2016). Vidal et al. (2014) registraram temperatura máxima de 98 °C no miolo do pão, utilizando temperaturas de cozimento de 170 a 210 °C. Zhang e Wang (2015), constataram que os níveis de DON no pão cozido

foram significativamente maiores (1,63-1,95 vezes), do que aqueles da farinha inicial, sendo estes resultados explicados pela conversão de desoxinivalenol-3 glicosídeo (D3G) em DON, durante os processos de fermentação e cozimento. O processo de panificação resultou em redução insignificante de DON em comparação com os níveis iniciais na farinha ($P>0,05$), no pão comum e no pão com a adição de 15% de gérmen de trigo (Giménez et al., 2014). Bolos assados a 160 °C, 180 °C e 200 °C apresentaram concentração de DON significativamente menor em comparação com a concentração no início do processo ($p<0,05$) (Vidal et al., 2015). Bergamini et al. (2010) relataram redução significativa nos níveis de DON no pão em comparação com a farinha de trigo original.

Tibola et al. (2018), avaliaram o efeito do processo de panificação nos níveis de micotoxinas em pães brancos e integrais, elaborados com grãos de trigo contaminados artificialmente, gerando um gradiente de contaminação (<500 ppb a >5.000 ppb). Os autores relataram redução significativa na concentração de DON nos pães de trigo branco e integral nos níveis superiores de DON (>2.000 ppb) em comparação com as farinhas de partida. Nos pães branco e integral, a redução de DON foi de 55% em comparação com as farinhas originais. Esta redução nos níveis de DON durante o processo de cozimento (180 °C por 35 min) pode ser explicada pelo pequeno tamanho dos pães (100 g), que favoreceu a distribuição de temperatura pelas camadas internas e, consequentemente, afetou a estabilidade do DON. ZEA foi detectada apenas nos dois níveis mais altos de contaminação inicial (>2.000 ppb), na farinha de trigo integral (média de 33,1 ppb) e nos pães integrais (média de 42,4 ppb). Os níveis de ZEA aumentaram ligeiramente nos pães em comparação com os níveis iniciais de farinha, mas o aumento não foi significativo estatisticamente.

O deoxinivalenol-3 glicosídeo (D3G) é uma micotoxina modificada formada através da ligação de uma molécula de glicose ao grupo hidroxila do carbono 3 da molécula de DON. Esta molécula pode ser formada na planta, na tentativa de detoxificação de DON ou, ainda, no processamento do alimento (Freire; Sant'Ana, 2018). Apesar de D3G ser formado ao longo do processamento do pão, o tratamento térmico é capaz de quebrar a ligação entre a glicose e DON, resultando em baixas concentrações deste derivado no produto final. Porém é possível que ocorra um aumento na concentração de DON devido a esta liberação (Kostelanska et al., 2011).

Dados controversos foram relatados para ZEA e toxinas T-2 e HT-2. Os níveis de ZEA permaneceram estáveis durante o cozimento do pão (Cano-Sancho et al., 2013), enquanto que uma redução de 40% no processamento de pão e 20% no de biscoitos

foram observados por Alldrick; Hajšelová (2004). Uma mitigação de 20% a 30% das toxinas T-2 e HT-2 foi observada durante a etapa de cozimento do pão (Monaci et al., 2015). No entanto, em outro estudo, estas micotoxinas permaneceram estáveis durante o cozimento (Schwake-Anduschus et al., 2010).

Níveis de micotoxinas em massas frescas

O consumo de massas alimentícias frescas aumentou drasticamente no Brasil na última década. Em 2018, mais de 56 bilhões de toneladas foram produzidas no país (ABIMAPI, 2019). Devido a esse aumento, estudos envolvendo o processamento de massas frescas tem se tornado cada vez mais relevantes para a segurança alimentar.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, massa alimentícia ou macarrão é definido como produto não fermentado, apresentado sob várias formas, recheado ou não, obtido pelo empasto, amassamento mecânico da mistura de farinha de trigo ou sêmola de trigo, e ou farinha de outros vegetais, adicionado ou não de outros ingredientes e acompanhado ou não de temperos e ou complementos, isoladamente ou adicionados diretamente à massa (ANVISA, 2000). Massas alimentícias frescas, como o nome sugere, são classificadas pelo seu teor de umidade, e definidas como produto que pode ou não ser submetido a um processo de secagem parcial, de forma que o produto final apresente umidade máxima de 35,0% (g/100g). Já massas secas ou pré-cozidas apresentam teores de umidade igual ou menores de 13% (g/100g) (ANVISA, 2000).

Entretanto, massas frescas normalmente não passam pelo processo de extrusão nem por etapas de secagem em que a umidade da massa é reduzida de 30% para aproximadamente 12% como ocorre na produção de massas secas (Guerreiro, 2006). Essa diferença é crucial para a compreensão do efeito do processamento nas micotoxinas, pois etapas envolvendo elevadas temperaturas como ocorre nos estágios de extrusão e de secagem, possuem alto impacto na mitigação de micotoxinas (Serrano et al., 2016). Já os processos de mistura, amassamento e laminação não parecem alterar os níveis de micotoxinas nas massas alimentícias (Hossen et al., 2014; Tittlemier et al., 2019). Assim, no caso de massas frescas, o processo de cozimento do alimento é a principal etapa para a mitigação dos metabólitos tóxicos.

Trabalhos analisando o efeito do cozimento em espaguete e *noodles* (macarrão estilo japonês) frescos reportaram que 42% a 70% de DON foi liberado na água

após o cozimento das massas (Nowick et al., 1988; Sugita-konishi et al., 2006). Resultados similares também foram encontrados para nivalenol e, aproximadamente 47% da toxina foi liberada durante o processo de cozimento do macarrão (Hossen et al., 2014). Tricotecenos são metabólitos termorresistentes (Vidal et al., 2015), porém sua alta solubilidade em água impacta sua liberação durante o cozimento da massa (Kushiro, 2008).

Como micotoxinas são compostos de estrutura variada, os efeitos decorrentes do processamento dos alimentos podem ser muito diversos. Análises envolvendo ocratoxina A (OTA) demonstraram que grande parte (67%) da toxina fica retida na massa após o cozimento (Sakuma et al., 2013). No grupo dos alcaloides do ergot, o processo de cozimento também não parece impactar significativamente a retenção dessas micotoxinas no macarrão (Tittlemier, et al., 2019). No Brasil, Bol et al. (2016) observaram uma redução de 75%, 66% e 10% de ZEA, OTA e aflatoxina B1 em macarrão fresco durante a etapa de cozimento, respectivamente. Porém, estudos sobre o efeito do processamento nas micotoxinas em massas frescas no país é ainda muito escasso.

A investigação sobre micotoxinas em cereais e produtos derivados já é bem estabelecida. Entretanto, o grupo chamado de micotoxinas emergentes tem recebido grande atenção devido à sua alta frequência em alimentos. Beauvericina (BEA), eniatinas (EN- grupo que inclui as formas ENA, ENB, ENA1 e ENB1), moniliformina (MON) e fusaproliferina são consideradas as micotoxinas emergentes mais relevantes atualmente (Schaarschmidt; Faulh-Hassek, 2018). Em geral, eniatinas (EN) são as micotoxinas emergentes mais presentes em alimentos derivados de cereais (Meca et al., 2010; García-Moraleja et al., 2015; Bouafifssa et al., 2018). Essa tendência também é observada em macarrão fresco. Investigações demonstraram contaminações por eniatinas tipo B e B1 em 85% e 75% de massas frescas, com concentrações máximas de 33,13 e 13,41 ppm, respectivamente (Serrano et al., 2016). García-Moraleja, et al. (2015) reportaram que 84% das amostras de macarrão fresco adquirido de mercados na Espanha estavam contaminados com ao menos uma micotoxina emergente. As toxinas ENB e ENB1 foram as mais frequentes com níveis médios de 7,03 e 4,43 ppm, respectivamente. Entretanto, os autores observaram que o processo de cozimento em água acidificada foi capaz de degradar entre 60% e 98% de todas as micotoxinas analisadas, sendo ENA e BEA a micotoxina mais e menos sensível ao tratamento, respectivamente. A adição de ácido à água de cozimento está relacionada com a alteração do pH da matriz que é um fator importante na mitigação dos níveis de

micotoxinas em alimentos (Bullerman; Bianchini, 2007). Estudos também mostraram que a retenção de MON é afetada no processo de cozimento. Tittlemier et al. (2019) reportaram que somente 27% de MON ficou retida após o cozimento de espaguete (massa seca).

As micotoxinas emergentes parecem ser afetadas também pelo processo de secagem (no caso de massas secas). Serrano et al. (2016) analisando o efeito de diferentes tipos de macarrão (integral e de farinha branca) e secagem em baixa, média e alta temperatura, reportou que a secagem média em 50 °C e de 75 °C de temperatura causou uma diminuição de até 50% e 80% na concentração de eniatinas, respectivamente. Já a secagem em temperatura ambiente (25 °C) não foi suficiente para reduzir as toxinas.

A mitigação de micotoxinas em massas alimentícias frescas ainda é uma área pouco estudada, contudo, as evidências indicam que precisa ser melhor explorada como também seus possíveis efeitos deletérios a saúde humana e animal.

Considerações finais

Micotoxinas são metabólitos secundários fúngicos com estrutura química variada e, portanto, os efeitos decorrentes do processamento dos cereais são diversos, podendo ocasionar a formação de toxinas conjugadas e/ou outros compostos químicos com toxicidade ainda desconhecida. Neste sentido, estudos visando investigar, principalmente, a estabilidade das toxinas de *Fusarium* durante o processamento de alimentos extrusados, derivados da panificação e massas frescas, reportaram resultados controversos nos níveis de tricotecenos, zearalenona e micotoxinas emergentes. Sendo assim, a prevenção da contaminação na matéria-prima é considerada uma estratégia crucial para minimizar níveis de micotoxinas no produto final.

Pesquisas considerando os níveis de micotoxinas modificadas e emergentes em matérias-primas e alimentos processados são necessárias, para avaliar os riscos da exposição humana às micotoxinas totais (livres, emergentes e suas formas modificadas). Contribuindo assim, para o planejamento e implementação de medidas efetivas para mitigar a contaminação por micotoxinas durante toda a cadeia produtiva de produtos à base de cereais.

Referências

- ABIMAPI. **Massas alimentícias**: estatísticas (2017-2019). Disponível em: <https://www.abimapi.com.br/estatisticas-massas-alimenticias.php>. Acesso em: 10 fev. 2019.
- ACCERBI, M.; RINALDI, V. E. A.; NG, P. K. W. Utilization of highly Deoxynivalenol-contaminated wheat via extrusion processing. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 12, p. 1485-1487, 1999.
- ALLDRICK, A. J.; HAJŠELOVÁ, M. Zearalenone. In: MAGAN, N.; OLSEN, M. (Ed.). **Mycotoxins in food**: detection and control. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited, 2004. p. 353-362. DOI 10.1201/9781439823361.
- ANVISA. Resolução-RDC nº 93, de 31 de outubro de 2000. Dispões sobre o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de massa alimentícia. **Diário Oficial da União**, seção 1, 31 out. 2000. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2000/rdc0093_31_10_2000.html. Acesso em: 28 out. 2020.
- BERGAMINI, E.; CATELLANI, D.; DALL'ASTA, C.; GALAVERNA, G.; DOSSENA, A.; MARCHELLI, R.; SUMAN, M. Fate of *Fusarium* mycotoxins in the cereal product supply chain: the deoxynivalenol (DON) case within industrial bread-making technology. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 27, n. 5, p. 677-687, May 2010. DOI 10.1080/19440041003660117.
- BERTHILLER, F.; CREWS, C.; DALL'ASTA, C.; SAEGER, S. de; HAESAERT, G.; KARLOVSKY, P.; OSWALD, I. P.; SEEFELDER, W.; SPEIJERS, G.; STROKA, J. Masked mycotoxins: A review. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 57, n. 1, p. 165-186, Jan. 2013. DOI 10.1002/mnfr.201100764.
- BOL, E. K.; ARAUJO, L.; VERAS, F. F.; WELKE, J. E. Estimated exposure to zearalenone, ochratoxin A and aflatoxin B1 through the consume of bakery products and pasta considering effects of food processing. **Food and Chemical Toxicology**, v. 89, p. 85-91, March 2016. DOI 10.1016/j.fct.2016.01.013.
- BOUAFIFSSA, Y.; MANYES, L.; RAHOUTI, M.; MAÑES, J.; BERRADA, H.; ZINEDINE, A.; FERNÁNDEZ-FRANZÓN, M. Multi-occurrence of twenty mycotoxins in pasta and a risk assessment in the moroccan population. **Toxins (Basels)**, v. 10, n. 11, p. 432, Nov. 2018. DOI 0.3390/toxins10110432.
- BULLERMAN, L. B.; BIANCHINI, A. Stability of mycotoxins during food processing. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, n. 1-2, p. 140-146, Oct. 2007. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.035.

- CANO-SANCHO, G.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J.; MARÍN, S. Effect of food processing on exposure assessment studies with mycotoxins. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 30, n. 5, p. 867-875, Jun. 2013. DOI 10.1080/19440049.2013.793824.
- CASTELLS, M.; MARÍN, S.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J. Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: A review. **Food Additives & Contaminants**, v. 22, n. 2, p. 150-157, Feb. 2005. DOI 10.1080/02652030500037969.
- CAZZANIGA, D.; BASÍLICO, J. C.; GONZÁLEZ, R. J.; TORRES, R. L.; DE GREEF, D. M. Mycotoxins inactivation by extrusion cooking of corn flour. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, n. 2, p. 144-147, Aug. 2001. DOI 0.1046/j.1472-765x.2001.00968.x.
- DEL PONTE, E. M.; SPOLTI, P.; WARD, T. J.; GOMES, L. B.; NICOLLI, C. P.; KUHNEM, P. R.; SILVA, C. N.; TESSMANN, D. J. Regional and field-specific factors affect the composition of *Fusarium* head blight pathogens in subtropical no-till wheat agroecosystem of Brazil. **Phytopathology**, v. 105, n. 2, p. 246-254, Feb. 2015. DOI 10.1094/PHYTO-04-14-0102-R.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to Zearalenone as undesirable substance in animal feed. **European Food Safety Authority Journal**, v. 89, p. 1-35, 2004.
- FAO. **Bread wheat**: improvement and production. Rome, IT: FAO, 2002. p. 483-542.
- FREIRE, L.; SANT'ANA, A. S. Modified mycotoxins: an updated review on their formation, detection, occurrence, and toxic effects. **Food and Chemical Toxicology**, v. 111, p. 189-205, Jan. 2018. DOI 10.1016/j.fct.2017.11.021.
- GARCÍA-MORALEJA, A.; FONT, G.; MAÑES, J.; FERRER, E. Comparison of different cooking process for the emerging mycotoxins reduction in fresh pasta. **Revista de Toxicología**, v. 32, n. 2, p. 131-134, 2015.
- GAZZOTTI, T.; BIAGI, G.; PAGLIUCA, G.; PINNA, C.; SCARDILLI, M.; GRANDI, M.; ZAGHINI, G. Occurrence of mycotoxins in extruded commercial dog food. **Animal Feed Science and Technology**, v. 202, p. 81-89, Mar. 2015. DOI 10.1016/j.anifeedsci.2015.02.004.
- GIMÉNEZ, I.; BLESÁ, J.; HERRERA, M.; ARIÑO, A. Effects of bread making and wheat germ addition on the natural Deoxynivalenol content in bread. **Toxins (Basels)**, v. 6, n. 1, p. 394-401, Jan. 2014. DOI 10.3390/toxins6010394.
- GUERREIRO, L. **Massas alimentícias**. Rio de Janeiro: REDETEC, 2006.
- HOSSEN, M. S.; NAKAGAWA, H.; NAGASHIMA, H.; OKADOME, H.; KUSHIRO, M. Loss of nivalenol during cooking of noodles made from *fusarium*-infected japanese soft

wheat. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 38, p. 1113-1118, 2014. DOI10.1111/jfpp.12070.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microbial Ecology of Food Commodities**. 2nd ed. New York: Kluwer Academic / Plenum Publishers, 2006.

JACKSON, L. S.; BULLERMAN, L. B. Effect of processing on Fusarium mycotoxins. In: JACKSON, L. S.; KNIZE, M. G.; MORGAN, J. N. **Impact of processing on food safety**. New York: Springer Science+Business Media, 1999. p. 243-261. (Advances in Experimental Medicine and Biology, v. 459)

KAMIMURA, H. Removal of mycotoxins during food processing. In: NATORI, S.; HASHIMOTO, K.; UENO, Y. (Ed.). **Mycotoxins and Phycotoxins' 88: A Collection of Invited Papers Presented at the Seventh International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins**, Tokyo, Japan, 16 a 19 August 1988. **Bioactive Molecular**, v. 10. 1989. p. 169-176.

KAUSHIK, G. Effect of processing on mycotoxin content in grains. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 12, p. 1672-1683, May 2015. DOI 10.1080/10408398.2012.701254.

KOSTELANSKA, M.; DZUMAN, Z.; MALACHOVA, A.; CAPOUCHOVA, I.; PROKINOVA, E.; SKERIKOVA, A.; HAJŠLOVA, J. Effects of milling and baking technologies on levels of Deoxynivalenol and its masked form Deoxynivalenol-3-Glucoside. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 17, p. 9303-9312, Sept. 2011. DOI 10.1021/jf202428f.

KUSHIRO, M. Effects of milling and cooking processes on the Deoxynivalenol content in wheat. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 9, n. 11, p. 2127-2145, Nov. 2008. DOI 10.3390/ijms9112127.

MECA, G.; ZINEDINE, A.; BLESÁ, J.; FONT, G.; MAÑES, J. Further data on the presence of Fusarium emerging mycotoxins enniatins, fusaproliferin and beauvericin in cereals available on the Spanish markets. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 5, p. 1412-1416, March 2010. DOI 10.1016/j.fct.2010.03.010.

MERCIER, C.; LINKO, P.; HARPER, J. M. **Extrusion Cooking**. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1989.

MONACI, L.; GARBETTA, A.; DE ANGELIS, E.; VISCONTI, A.; MINERVINI, F. Assessment of toxic potential of mycotoxin contaminated bread during in vitro human digestion on human B lymphoid cell line. **Toxicology Letters**, v. 232, n. 1, p. 106-112, Jan. 2015. DOI 10.1016/j.toxlet.2014.09.021.

MONTES, R.; SEGARRA, R.; & CASTILLO, M. A. Trichothecenes in breakfast cereals from the Spanish retail market. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 27, n. 1, p. 38-44, Ago. 2012. DOI 10.1016/j.jfca.2012.05.004.

NEME, K.; MOHAMMED, A. Mycotoxin occurrence in grains and the role of postharvest management as mitigation strategies. A review. **Food Control**, v. 78, p. 412-425, Ago. 2017. DOI 10.1016/j.foodcont.2017.03.012.

OLIVEIRA, L. de C.; ROSELL, C. M.; STEEL, C. J. Effect of the addition of whole-grain wheat flour and of extrusion process parameters on dietary fibre content, starch transformation and mechanical properties of a ready-to-eat breakfast cereal. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 6, p. 1504-1514, June 2015. DOI 10.1111/ijfs.12778.

OLIVEIRA, L. C.; SCHMIELE, M.; STEEL, C. J. Development of whole grain wheat flour extruded cereal and process impacts on color, expansion, and dry and bowl-life texture. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 261-270, Jan. 2017. DOI 10.1016/j.lwt.2016.08.064.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 3rd ed. New York: Springer, 2009.

SAKUMA, H.; WATANABE, Y.; FURUSAWA, H.; YOSHINARI, T.; AKASHI, H.; KAWAKAMI, H.; SAITO, S.; SUGITA-KONISHI, Y. Estimated dietary exposure to mycotoxins after taking into account the cooking of staple foods in Japan. **Toxins (Basel)**, v. 5, n. 5, p. 1032-1042, May 2013. DOI 10.3390/toxins5051032.

SAMAR, M. M.; NEIRA, M. S.; RESNIK, S. L.; PACIN, A. Effect of fermentation on naturally occurring Deoxynivalenol (DON) in Argentinean bread processing technology. **Food Additives and Contaminants**, v. 18, n. 11, p. 1004-1010, Nov. 2001. DOI 10.1080/02652030110051284.

SAVI, G. D.; PIACENTINI, K. C.; TIBOLA, C. S.; SANTOS, K.; MARIA, G. S.; SCUSSEL, V. M. Deoxynivalenol in the wheat milling process and wheat-based products and daily intake estimates for the Southern Brazilian population. **Food Control**, v. 62, p. 231-236, pril 2016. DOI 10.1016/j.foodcont.2015.10.029.

SCHAARSCHMIDT, S.; FAUHL-HASSEK, C. The fate of mycotoxins during the processing of wheat for human consumption. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 3, p. 556-593, May 2018. DOI 10.1111/1541-4337.12338.

SCHWAKE-ANDUSCHUS, C.; LANGENKÄMPER, G.; UNBEHEND, G.; DIETRICH, R.; MÄRTLBAUER, E.; MÜNZING, K. Occurrence of Fusarium T-2 and HT-2 toxins in oats from cultivar studies in Germany and degradation of the toxins during grain cleaning treatment and food processing. **Food Additives and Contaminants: Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 27, n. 9, p. 1253-1260, Sept. 2010. DOI 10.1080/19440049.2010.487499.

SCUDAMORE, K. A.; GUY, R. C. E.; KELLEHER, B.; MACDONALD, S. J. Fate of Fusarium mycotoxins in maize flour and grits during extrusion cooking. **Food Additives and Contaminants: Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 25, n. 11, p. 1374-1384, Nov. 2008a. DOI 10.1080/02652030802136188.

SCUDAMORE, K. A.; GUY, R. C. E.; KELLEHER, B.; MACDONALD, S. J. Fate of the Fusarium mycotoxins, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone, during extrusion of wholemeal wheat grain. **Food Additives & Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 25, p. 331-337, 2008b. DOI 10.1080/02652030701658365.

SERRANO, A. B.; FONT, G.; MAÑES, J.; FERRER, E. Effects of technological processes on enniatin levels in pasta. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 5, p.1756-1763, 2016. DOI 10.1002/jsfa.7282.

SUGITA-KONISHI, Y.; PARK, B. J.; KOBAYASHI-HATTORI, K.; TANAKA, T.; CHONAN, T.; YOSHIKAWA, K.; KUMAGAI, S. Effect of cooking process on the deoxynivalenol content and its subsequent cytotoxicity in wheat products. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 70, n. 7, p. 1764-1768, 2006. DOI 10.1271/bbb.50571

SUMAN, M.; GENEROTTI, S. Transformation of mycotoxins upon food processing: masking, binding and degradation phenomena. In: DALL'ASTA, C.; BERTHILLER, F. **Masked mycotoxins in food: formation, occurrence and toxicological relevance**. Cambridge, England: RSC Publishing, 2015. p. 73-89.

TEIXEIRA, E. M. K.; FREHSE, M. S.; FREIRE, R. L.; ONO, M. A.; BORDINI, J. G.; HIROZAWA, M. T.; ONO, E. Y. S. Safety of low and high cost dry feed intended for dogs in Brazil concerning fumonisins, zearalenone and aflatoxins. **World Mycotoxin Journal**, v. 10, n. 3, p. 273-283, 2017. DOI 10.3920/WMJ2016.2166.

TIBOLA, C. S.; MIRANDA, M. Z. de; PAIVA, F. F.; FERNANDES, J. M. C.; GUARIENTI, E. M.; NICOLAU, M. Effect of breadmaking process on mycotoxin content in white and whole wheat breads. **Cereal Chemistry**, v. 95, n. 5, p. 660-665, 2018. DOI 10.1002/cche.10079.

TITTELMIER, S. A.; DRUL, D.; ROSCOE, M.; TURNOCK, D.; TAYLOR, D.; FU, B. X. Fate of ergot alkaloids during laboratory scale durum processing and pasta production. **Toxins (Basel)**, v. 11, n. 4, p.195, 2019. DOI 10.3390/toxins11040195.

TRALAMAZZA, S. M.; BRAGHINI, R.; CORRÊA, B. Trichothecene genotypes of the *Fusarium graminearum* species complex isolated from Brazilian wheat grains by conventional and quantitative PCR. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1-7, Mar. 2016. DOI 10.3389/fmicb.2016.00246.

VENDL, O.; CREWS, C.; MACDONALD, S. J.; KRSKA, R.; BERTHILLER, F. Occurrence of free and conjugated Fusarium mycotoxins in cereal-based food. **Food Additives and Contaminants: Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 27, n. 8, p. 1148-1152, July 2010. DOI 10.1080/19440041003801166.

VIDAL, A.; MORALES, H.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J.; MARÍN, S. Stability of DON and OTA during the breadmaking process and determination of process and performance criteria. **Food Control**, v. 40, p. 234-242, 2014. DOI 10.1016/j.foodcont.2013.11.044.

VIDAL, A.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J.; MARÍN, S. The fate of Deoxynivalenol through wheat processing to food products. **Current Opinion in Food Science**, v. 11, p. 34-39, Oct. 2016. DOI 10.1016/j.cofs.2016.09.001.

VIDAL, A.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J.; MARÍN, S. Thermal stability and kinetics of degradation of Deoxynivalenol, Deoxynivalenol conjugates and Ochratoxin A during baking of wheat bakery products. **Food Chemistry**, v. 178, p. 276-286, Jan. 2015. DOI 10.1016/j.foodchem.2015.01.098.

WU, L.; WANG, B. Evaluation on levels and conversion profiles of DON, 3-ADON, and 15-ADON during bread making process. **Food Chemistry**, v. 185, p. 509-516, March 2015. DOI 10.1016/j.foodchem.2015.03.082.

ZHANG, H.; WANG, B. Fates of deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside during bread and noodle processing. **Food Control**, v. 50, p. 754-757, 2015. DOI 10.1016/j.foodcont.2014.10.009.

Flávio Martins Montenegro
Maria Teresa Pedrosa Silva Clerici

Introdução

A produção mundial de trigo para a safra de 2020/21 está estimada em aproximadamente 770 milhões de toneladas. Desta produção somente cerca de 6 milhões de toneladas será produzida no Brasil, que terá que importar por volta de 7 milhões de toneladas, para consumo interno (Abitrigo, 2020).

Cada região do mundo possui índices maiores ou menores de perdas em cereais armazenados devido à quebra técnica e à incidência de insetos, fungos e roedores. Estima-se que 10% dos cereais são perdidos na América do Norte e 30% na África e Ásia. Portanto, os países em desenvolvimento é que apresentam os maiores problemas nas práticas agrícolas e de armazenamento (Baloch, 1999). Por outro lado, países com grandes volumes de produção e exportação apresentam práticas avançadas para redução de perdas. Como exemplo, o Canadá não permite infestação por insetos em grãos armazenados destinados ao consumo humano (Vadivambal et al., 2007).

O Brasil, que está entre os países importadores, apresenta um mercado de trigo de diferentes origens, logo, todas as etapas de processamento, do campo ao consumidor, passam por gestão de qualidade, que envolve grandes investimentos na segurança dos alimentos, qualidade tecnológica, segregação, rastreabilidade e certificação de sistemas produtivos (Tibola et al., 2011, 2013). Toda esta documentação deve permitir contar a história da farinha de trigo produzida por um moinho.

O trigo é considerado um cereal nobre, pela qualidade e quantidade das proteínas formadoras de glúten presentes no endosperma, que permitem o desenvolvimento de uma rede tridimensional capaz de dar elasticidade e extensibilidade em produtos como

pães, massas, bolos e biscoitos (Awika, 2011). Assim, todo o processo de produção, desde o campo até o processamento e obtenção da farinha de trigo, é desafiador, pois deve manter a segurança microbiológica e não produzir danos ao glúten.

As etapas que envolvem a pós-colheita diferem de país para país, dependendo do grau de desenvolvimento. Muitas destas etapas são similares e variam desde colheitas manuais, semi-mecanizadas ou com baixa mecanização até as industriais, com alta mecanização, sendo que o fator determinante para esta variação está no tamanho da propriedade rural (Kumar; Kalita, 2017). As operações básicas são colheita, debulha, transporte, pré-limpeza, secagem, limpeza, armazenagem, embalagem e comercialização.

Este capítulo será dedicado às etapas iniciais de pós-colheita, necessárias para a conservação do grão e garantia da segurança dos alimentos.

Colheita

Durante a colheita, os fatores mais importantes são o método usado, o tempo de maturação do grão e as condições climáticas do período.

O método para a colheita do trigo poderá ser manual, com ou sem uso de equipamentos auxiliares, e mecânicos e deve-se dar preferência para que ocorra em dias ensolarados e com baixa umidade relativa.

A colheita pode ser realizada com dois objetivos: colher o trigo para semente ou para consumo e processamento:

- O trigo para produção de sementes deve ser colhido em seu período de maturação fisiológica, onde o grão tem aproximadamente 20%-50% de umidade, para que se tenha o potencial máximo de germinação (Kehl, 2015). É importante manter as sementes sem contaminações por fungos, para evitar danos posteriores na cadeia produtiva do trigo.
- Para o trigo para moagem, os grãos deverão estar em fase avançada de maturidade fisiológica, com teor de umidade de até 25% e neste caso deve ser seco imediatamente, sendo que um grão colhido com 14% de umidade pode ser estocado por 2 a 3 meses e se for para períodos superiores, a umidade deve ser inferior a 13% (Baloch, 1999).

Comparando a colheita manual com a inteiramente mecanizada em relação à avaliação da maturidade dos grãos, esta última pode aumentar o rendimento de grãos imaturos, que pode ter um maior teor de umidade em relação aos grãos maduros.

Uma das vantagens da colheita manual pode ser a percepção, visível a olho nu, do trabalhador em relação à presença de grãos germinados na espiga e à infestação por fungos que podem estar nas folhas, caules e grãos (Prescott et al., 1986). Já na colheita mecânica isto ainda não é possível. Esta pré-seleção durante a colheita pode aumentar o valor agregado do trigo e pode ser muito benéfica para trigos especiais, como os que têm certificação de origem e/ou orgânicos e também outras espécies presentes. Portanto, se antes a colheita manual era vista como um trabalho moroso e com mão-de-obra não especializada, hoje ela pode ser usada como forma social de manutenção do trabalhador no campo e também para ter pessoal treinado para reconhecer doenças causadas por fungos que são aparentes e que podem comprometer a qualidade dos grãos de trigos especiais ou até mesmo para inspeção por amostragem do trigo comum, antes da colheita mecanizada.

A colheita mecanizada é usada em grandes plantações. São utilizadas modernas colhedoras com elevados recursos tecnológicos, inclusive com elevado grau de informatização, exigindo trabalhadores com capacitação técnica para operá-las. Neste processo de colheita, a pré-seleção dos grãos não é possível e ela ocorre em etapas posteriores. As vantagens são o rendimento e a rapidez da colheita, diminuindo as chances de germinação pré-colheita dos grãos, porém pode aumentar o número de grãos danificados mecanicamente.

Transporte

Grande parte do transporte do trigo no Brasil que sai do campo para os silos de armazenagem é feita pela via rodoviária. Para evitar contaminações, é necessário que os caminhões estejam previamente limpos, sem umidade e presença de outros grãos e/ou pragas. A colheita deve ser rápida e o transporte de grandes quantidades de grãos vindos de diferentes propriedades, pode promover contaminações cruzadas, já que ocorrem contratações de transportadoras em épocas de safra. Somado a estes riscos, tem que ser avaliado o tempo de duração do transporte de grãos úmidos e também a quebra de grãos durante a descarga nos terminais. Importante lembrar que grãos danificados mecanicamente favorecem o desenvolvimento de fungos durante as fases de processamento pós-colheita.

Debulha, pré-limpeza e limpeza

Se a colheita for feita de forma manual, o trigo é transportado em feixes amarrados e debulhado nos locais destinados para secagem. Se for mecânica, esta debulha é feita na própria colheitadeira.

As etapas de limpeza são operações fundamentais para o armazenamento de grãos e depois também para a etapa de moagem.

Antes de ser seco, o trigo colhido deve passar pela pré-limpeza para diminuir as impurezas, como pedaços de grãos, detritos vegetais, sementes de plantas daninhas, torrões de terra, pedras e materiais estranhos. Desta forma, a etapa de secagem se torna mais rápida, devido ao aumento da circulação de ar entre a massa de grãos (Rocha, 1982). A limpeza pode ser realizada em etapas, por sistemas simples de peneiras, que devem apresentar diferentes malhas, onde impurezas maiores e menores que o trigo são retiradas ou pode ser feitas por equipamentos mais sofisticados e automatizados, que são de maior custo, para uso industrial (Rocha, 1982). Estes equipamentos apresentam eficiência para redução das impurezas em níveis inferiores ao da legislação, facilitando a classificação do trigo e agregando valor comercial.

Secagem

Considerada a operação mais importante do preparo dos grãos para o armazenamento, a secagem tem como finalidade adequar a massa de grãos a níveis de umidade recomendáveis para evitar a deterioração durante o processo de armazenamento (Rocha, 1982).

Parece simples, pois bastaria secar o trigo e ele estaria apto a ficar armazenado por longo tempo, porém, como todo grão, ele tem uma complexidade de nutrientes e compostos bioativos que serão afetados em proporções diretas às condições de secagem. Ou seja, inúmeros fatores estão envolvidos neste processo, como exemplo, tempo e temperatura de secagem, umidade inicial do grão, velocidade de circulação do ar, velocidade de retirada do ar úmido, massa e movimentação dos grãos, umidade relativa do ambiente de secagem, entre outros.

Antes de abordar a secagem propriamente dita, a seguir estão descritas a finalidade de destino do trigo para comercialização:

- *Sementes*

O processo de secagem exige controle rigoroso do tempo e temperatura, pois não pode haver desnaturação das proteínas, incluindo as enzimas que promovem a germinação, dano pelo calor e nem reações oxidativas dos compostos bioativos. Como o trigo para semente é colhido com elevados teores de umidade, os estudos para colheita e secagem são diferenciados, como exemplo, Kehl (2015), em sua dissertação, estudou o uso de herbicida como agente dessecante das folhas, que ainda estão verdes, para facilitar a colheita de trigo para semente. Os resultados mostraram que a dessecação reduziu a qualidade fisiológica das sementes, pois os grãos colhidos em umidades elevadas (40%) foram heterogêneos tanto no teor de umidade, quanto na maturidade.

- *Produtos de uso alimentar humano*

- Produto de grão inteiro ou farinha integral: para estes produtos, de maior valor comercial, devido aos efeitos benéficos à saúde, deve-se conduzir estudos para adaptar os processos de secagem, pois estes podem afetar principalmente o gérmen e as camadas externas do trigo, que contêm os compostos bioativos;
- Farinhas ou sêmolos refinadas com destino a panificação e massas: para estes produtos o processo de secagem deve prevenir danos às proteínas formadoras de glúten; e.
- Produtos pré-gelatinizados como cereais matinais, flocados, sopas, mingaus entre outros: para estes produtos, dependendo se será usada farinha refinada ou integral, pode haver variações na secagem, desde que não afetem o rendimento do processo de moagem, quando este for realizado em rolos.

- *Produção de glúten vital, extração de amido, óleos e para uso biotecnológico*

Os processos de secagem devem ser com controle rigoroso de temperatura para evitar modificações dos nutrientes.

- *Ração animal e outros usos*

Os países produtores e exportadores têm uma cadeia produtiva dedicada a este setor.

No Brasil, o trigo tem seu destino principal para panificação e produção de massas, logo o controle de temperatura para evitar a desnaturação proteica é primordial.

Atividade de água (Aa)

A secagem é realizada, com o objetivo de reduzir a quantidade de água livre presente no grão, pois é esta água que estará disponível para crescimento de micro-organismos e para reações químicas e enzimáticas deteriorantes (Batey, 2017). O processo de secagem deve ser realizado com rigoroso controle das operações individuais envolvidas, pois a secagem excessiva poderá aumentar os danos físicos e químicos dos grãos, como as reações de escurecimento e as interações entre nutrientes, tornando-os não biodisponíveis. Entretanto, se a secagem for incompleta, propiciará o aumento das reações metabólicas, o desenvolvimento de insetos e de fungos de armazenamento, que poderão produzir micotoxinas.

A Aa é um parâmetro diretamente relacionado ao conteúdo de água disponível para participar de reações químicas, físico-químicas, enzimáticas e microbianas, que são, de modo geral, indesejáveis quando o objetivo principal é a manutenção da estabilidade das características dos alimentos durante os períodos de armazenamento (Barbosa-Cánovas et al., 2007).

Por definição, Aa é a relação da pressão de vapor de água de um material, com a pressão de vapor da água pura, quando os dois estão em uma mesma temperatura, e que pode ser demonstrado pela Equação 1.

$$Aa = \frac{p}{p0} \quad \text{Equação 1}$$

Em que: p é pressão de vapor de água do material e p0 é a pressão de vapor da água pura.

A Aa está diretamente ligada ao ambiente em que o material se encontra, sendo que a UR do ar determina a umidade do mesmo, resultando em uma situação de equilíbrio. Neste caso, em que a temperatura é constante, a umidade relativa do ar é denominada de umidade relativa de equilíbrio (URE) (Barbosa-Cánovas et al., 2007). A Equação 2 retrata esta relação de equilíbrio.

$$Aa = \frac{URE}{100} \quad \text{Equação 2}$$

Em que: Aa é a atividade de água e URE é a umidade relativa de equilíbrio (%).

De modo geral, um alimento é tido como estável, em relação ao crescimento microbiano, quando possui valores de Aa menores que 0,60, visto que a maioria dos bolores cresce em valores acima de 0,80, exceto alguns fungos xerofílicos, que podem

se desenvolver em condições reduzidas de Aa, faixa de 0,60 a 0,62, e completar seu ciclo de vida mesmo em materiais ou substratos secos (Pitt; Hocking, 2009; Farkas, 2007). A Figura 1 apresenta a régua de referência dos valores de atividade de água para micro-organismos.

Na prática, pode existir troca de umidade entre os grãos, caso tenham umidades de colheitas diferentes e também entre os grãos e o ambiente. Por exemplo, há cultivares de trigo que não apresentam dormência, logo, se no momento da colheita ocorrerem chuvas, estes podem germinar na espiga, com depreciação de seu valor comercial.

Carneiro et al. (2005) propôs uma série de medidas, como a colheita antecipada do trigo, mesmo com a umidade acima de 12%-15%, mas com rápida secagem artificial e verificou que houve redução da atividade de alfa-amilase (envolvida no processo de germinação) e manutenção das características reológicas do trigo, já que estes parâmetros definem o uso final para a farinha de trigo destinada à panificação.

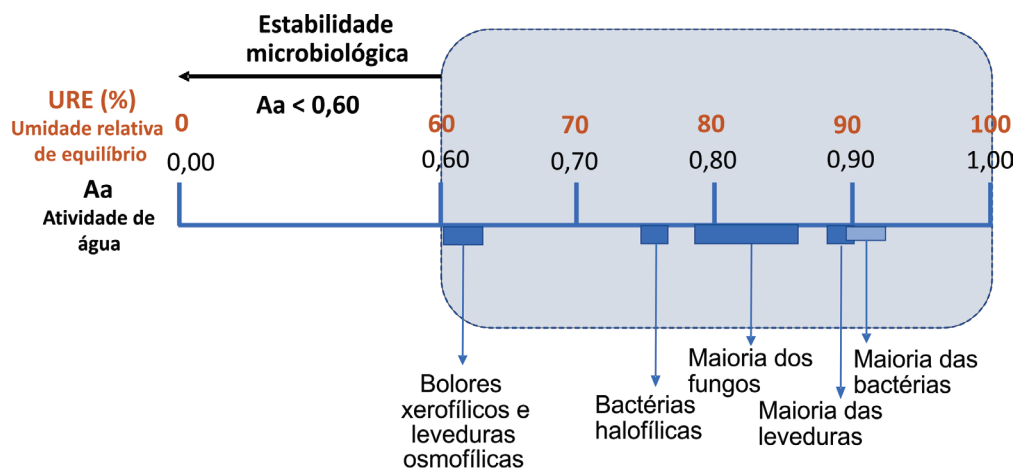


Figura 1. Faixa de valores de atividade de água (Aa) e Umidade Relativa de Equilíbrio (URE) apontando onde o crescimento de micro-organismos é mais favorecido.

Fonte: Adaptada de USDA (2019).

Processos de secagem

A opção pelo tipo de processo depende da umidade do trigo e do ar. Quando o trigo for colhido com umidade superior a 13%, este deve ser submetido à secagem

antes da operação de armazenamento. Em trigos com mais de 16% de umidade, a secagem deve ser lenta para evitar danos físicos ao grão e ser realizada de forma que a temperatura máxima na massa de grãos não ultrapasse 43 °C (Elias, 2009), desta forma evita-se a desnaturação de proteínas, processos oxidativos e danos pelo calor no trigo.

- *Secagem natural*

A secagem natural ou ao sol possui relação direta com a localização do cultivo e com o grau de desenvolvimento da região agrícola, sendo predominante em muitos países produtores de trigo da Ásia, África e da América Latina. A secagem pode ser na própria espiga ou com os grãos espalhados em finas camadas em telhados ou terrenos planos (Baloch, 1999).

A secagem natural possui uma série de desvantagens e riscos associados. Este processo de secagem favorece o desenvolvimento de micro-organismos, como os fungos, possíveis formadores de micotoxinas, visto que o tempo de processamento para diminuição da umidade é lento, somado a possíveis contaminações por sujidades naturais, pássaros e roedores, havendo necessidade de um controle mais intenso em sua condução (Baloch, 1999).

No entanto, as vantagens são maiores para o trigo que será seco para semente e os especiais, com pouca produção e alto valor agregado. Para pequenos produtores de regiões de baixa umidade relativa e temperaturas altas ela é muito vantajosa, pois a ausência do consumo de energia e o uso de mão-de-obra não-especializada favorecem o plantio para subsistência ou consumo regional.

- *Secagem artificial*

A secagem artificial ou mecanizada de grãos retira o máximo de água livre em um menor tempo, mas mantém a água fortemente ligada e garante as características intrínsecas dos grãos (Silva, 2005). Os processos podem ser realizados em silos secadores, por secagem intermitente, secagem contínua e seca-aeração (Oliveira et al., 2010).

Secar os grãos de tal forma que eles permaneçam em equilíbrio higroscópico com o ambiente é muito importante para a conservação, pois se a pressão de vapor do grão for maior do que a do ar circundante, ocorre o fenômeno de dessorção, havendo transferência de vapor de água para o ar, como consequência os grãos perdem peso

e podem murchar. Já o contrário acontece quando a pressão de vapor do grão for menor do que o ar circundante, havendo adsorção de água pelos grãos (Silva, 2005) e neste caso, o risco de desenvolvimento de fungos durante o armazenamento se torna elevado.

A secagem artificial depende de investimentos. A secagem é estacionária de leito fixo, podendo ser feita em silos que apresentam maior largura que altura (horizontais), ou em silos verticais (maior altura que largura). Normalmente é feita em baixas temperaturas (no máximo até 10 °C acima da temperatura ambiente). O ar de secagem deve possuir URE abaixo de 60%, desta forma, a secagem do material pode variar de 15 a 30 dias até sua finalização sem que ocorra a deterioração do produto (Silva, 2005). Este processo é lento e pode criar gradientes de umidade, com secagem heterogênea dos grãos.

Os processos contínuos ou intermitentes de secagem são realizados em grandes propriedades ou cooperativas, sendo efetuada por secadores. A secagem é definida por dois critérios, sendo o primeiro o fluxo do ar de secagem e da massa de grãos, destacando-se a secagem em fluxo cruzado, fluxo concorrente, fluxo contracorrente e fluxo misto. O segundo critério corresponde a definição da condução da secagem, que pode ser de forma intermitente ou contínua (Silva, 2005). Neste caso, a temperatura pode ser acima de 10 °C da temperatura ambiente, devido à rapidez com que o grão é exposto ao ar aquecido.

Em relação à fonte de calor para aquecer o ar, a prática mais comum para o trigo recém colhido é o emprego de secadores compostos por fornalhas a lenha, onde o controle de temperatura é difícil, com possível formação de fumaça, ou por queimadores a gás, permitindo melhor controle de processo (Silva, 2005). Em secadores a lenha, a fumaça pode ser impulsionada pelos ventiladores e impregnar os grãos que estão sendo secos com subprodutos de sua combustão, como o alcatrão que estará presente na farinha de trigo resultante da moagem e que pode ocasionar sérios danos à saúde de seus consumidores (Portella; Eichelberger, 2001). Além disso, as altas temperaturas de secagem podem provocar danos físicos e químicos ao trigo, como aumento de grãos trincados e/ou queimados, além de promover danos às proteínas presentes no grão, o que pode levar a perdas econômicas na comercialização deste trigo (Hagstrum et al., 2012; Mori et al., 2016).

Na colheita e na secagem de trigo com destino à panificação, o controle da temperatura deve ser rigoroso para não desnaturar as proteínas do glúten. Elias et al. (2009)

estudaram três métodos de secagem de grãos colhidos com variações da umidade de colheita: 14% (secagem na planta), 16% (usual) e a 19% de umidade (antecipada) e nas umidades de 16% a 18% foram realizados processos de secagem estacionária com a temperatura do ar a 45 °C, secagem intermitente a 70 °C, e secagem estacionária sem aquecimento do ar. Os resultados mostraram que o trigo colhido seco a 14% apresentou resultados inferiores tecnologicamente e menor tempo de armazenamento que os demais trigos.

Deliberali et al. (2010) realizaram a colheita de grãos de trigo na forma convencional e antecipada, com teores de água de 15% e 19%, respectivamente, e estudaram dois métodos de secagem artificial. Um estacionário, com temperatura do ar de 45 °C e um intermitente, com temperatura do ar de 65 °C até atingirem 13% de umidade. Para ambos os processos, o equilíbrio higroscópico ocorreu após quatro meses de armazenamento com teores de umidade entre 13,05% e 13,49%. Os resultados foram promissores para a colheita antecipada e secagem intermitente, que tiveram maior qualidade do glúten.

Estudos de novos processos de secagem têm sido conduzidos, entre eles o uso de tecnologia de micro-ondas para secagem de grãos e de plasma não térmico.

- *Micro-ondas*

Os equipamentos de micro-ondas podem ser usados para secagem dos grãos e também para controle de umidade durante o armazenamento, as vantagens tecnológicas são o controle do tempo e da temperatura, que serão menores e podem reduzir os efeitos negativos como mudança de sabor e coloração, perda de nutrientes e perda de densidade do produto, além do controle de insetos através do aquecimento dielétrico, mesmo que os grãos, em especial os cereais, não sejam bons condutores de eletricidade (Chang et al., 2011).

Um exemplo do uso de micro-ondas para controle de insetos em grãos foi o estudo de Vadivambal, Jayas; White (2007), que aplicaram micro-ondas por 28 s ou 56 s, em potências que variaram de 200 W a 500 W, em grãos de trigo com umidades variando de 14% a 18% e infestados por *Tribolium castaneum*, *Cryptolestes ferrugineus*, e *Sitophilus granarius*. As três espécies de insetos morreram após aplicação de 500 W de energia por micro-ondas pelo tempo de 28 s, mostrando a efetividade do processo.

Para controle de micro-organismos patogênicos em sementes de trigo, Knox et al. (2013) aplicaram micro-ondas, na potência máxima nominal do equipamento de 800 W,

em tempos de exposição com intervalos de 15 s, até o tempo final de exposição de 45 s. Os resultados foram particularmente efetivos para o controle de *Fusarium spp* e *Microdochium nivale*, onde com 15 s de exposição houve a redução de 72% e 77%, respectivamente, e com 45 s de exposição a 800 W ocorreu a redução de 99% para os dois patógenos avaliados.

Além dos resultados aplicados diretamente nos experimentos conduzidos, a tecnologia de micro-ondas permite redução do impacto ambiental devido ao uso de energia limpa, menor consumo de energia, economia de espaço pelo tamanho reduzido do micro-ondas e menor tempo de secagem, porém não é possível para locais sem energia elétrica e os equipamentos são de alto custo.

Clerici, Montenegro, Marsaioli Jr. e Berteli (2019) depositaram a patente BR 10 2019 027383 6, onde apresentaram o desenvolvimento de um equipamento processador por micro-ondas para tratamento de materiais alimentícios. No trigo foi possível obter a redução da Aa de forma rápida e sem danos pelo calor. A combinação de tempo e potência pode modificar as características da farinha ou não, que poderá ser de acordo com a finalidade desejada. A vantagem deste equipamento é que pode ser produzido de acordo com a escala de produção desejada, podendo ter um futuro promissor em nível industrial.

- *Plasma não térmico*

Clerici, Marsaioli Jr., Montenegro, Berteli, Sampaio e Amorim (2019), depositaram a patente BR 10 2019 027106 0, que consiste em um equipamento com um dispositivo gerador de plasma não térmico, gerado a partir de micro-ondas para tratamento contínuo de materiais, podendo ser aplicado na secagem de grãos de forma rápida e segura. Da mesma forma, que o micro-ondas, o equipamento de plasma não térmico exige rede elétrica e seu uso para aplicação direta em alimentos ainda está em avaliação.

Armazenamento

Após seco, o trigo seguirá para o armazenamento. Pequenos produtores usarão armazéns graneleiros, construídos em alvenaria ou outro material, onde o trigo ficará em sacarias, tambores ou containeres. O controle de umidade e temperatura nestes locais não é efetivo, pois muitos permanecem com as portas e janelas abertas,

podendo ocorrer o ataque de pássaros, roedores e insetos. Dados deste tipo de armazenamento são difíceis de serem obtidos, principalmente se o trigo for usado para fins de subsistência. Por exemplo, no Paquistão as perdas estimadas podem chegar a 75% do trigo estocado em pequenas propriedades (Baloch, 1999).

Silos de armazenamento em escala industrial são construídos para ter controle de temperatura, umidade, circulação de ar e dos grãos para que as boas práticas de conservação sejam realizadas.

Durante o armazenamento pode haver migração de umidade do ar para o grão e vice-versa, devido às variações de temperaturas dos dias e noites, ocorrendo formação de regiões no silo ou armazém com maior umidade. Para resolver estes problemas, é feita a aeração dos grãos. A termometria, em que termopares ficam estrategicamente distribuídos nos silos, pode indicar onde está ocorrendo aumento de temperatura e como consequência, pode estar havendo maior atividade biológica.

O combate a pragas deve ser constante e as inspeções devem ser periódicas, em intervalos de 15 a 30 dias, para que as infestações possam ser detectadas. São adotadas medidas preventivas, seguindo as normas da garantia de qualidade, incluindo expurgo ou fumigação com agentes químicos permitidos pela legislação vigente em cada país (Rocha, s.d.).

O controle de micro-organismos durante o armazenamento deve ser sempre preventivo e é baseado em duas variáveis, temperatura e umidade. Para cereais como o trigo, o conteúdo de água livre presente no grão para armazenamento seguro deve estar em torno de 0,60, com umidade em torno de 13% e UR entre 65%-70% para que haja equilíbrio higroscópico dos grãos.

Os insetos-praga são os principais responsáveis pela deterioração em grãos e sementes durante o armazenamento. O desenvolvimento deles ocorre devido a sucessivos problemas ocorridos durante o período da colheita, secagem inadequada na pós-colheita e infraestrutura deficiente de armazenamento, que pode resultar em níveis mais altos de umidade e de temperatura, sendo estas, as condições ideais para a proliferação de insetos-pragas, responsáveis por danos diretos aos grãos, além de serem vetores de fungos produtores de micotoxinas (Bortolotto, 2014; Tibola et al., 2013).

Em razão da natureza climatológica brasileira, os fungos vêm sendo cada vez mais estudados, pois os problemas de segurança dos alimentos podem ser muito

graves devido ao aumento dos níveis de micotoxinas, fazendo com que organismos regulatórios internacionais, como Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), Organização Mundial da Saúde (OMS) e nacionais, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) sejam cada vez mais rigorosos em seus controles e estabelecimento de limites máximos (Iamanaka et al., 2010; Lopes, 2019).

O trigo, por ter aproximadamente 75% de carboidratos em sua composição, é substrato preferencial de fungos e com isso possui grande susceptibilidade ao acúmulo de micotoxinas. As espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* são os fungos de maior relevância durante a etapa de armazenamento por produzirem metabólitos secundários, as micotoxinas aflatoxina (AF) e ocratoxina A (OTA) (Tibola et al., 2013).

Khaneghah et al. (2019) fizeram um estudo por meta-análise do acompanhamento dos avanços no conhecimento sobre micotoxinas em trabalhos científicos publicados nos últimos 24 anos para tomada de ações de segurança alimentar. Estes autores verificaram que dentre as 300 micotoxinas identificadas, as mais estudadas em cereais e derivados são ocratoxina A (OTA), zearalenona (ZEN), (DON) e aflotoxina (AF). Em outro trabalho, estes autores (Khaneghah et al., 2018) relataram também o desafio para identificação e quantificação de micotoxinas mascaradas como o deoxinivalenol-3-glucosídeo (DON-3-Glc) e o deoxinivalenol-15-B-d-glicopiranosídeo (DON-15-glucoside) em produtos de cereais.

Os maiores efeitos da presença de esporos fúngicos no grão do trigo estão nos riscos na qualidade do produto final, como foi analisado por Santos et al. (2020), onde a presença de fungos em farinhas integrais (trigo e milho) e grãos foram de 100% e 87%, respectivamente. Na farinha de trigo integral houve predominância de fungos dos gêneros *Penicillium* (38,2%) e *Aspergillus* (23,6%), seguido do gênero *Eurotium* (19,1%). Esta contaminação inicial refletiu-se na contaminação fúngica dos pães multigrãos produzidos, segundo os autores, os esporos das farinhas, durante as etapas de processamento podem veicular pelo ar e promover contaminação cruzada ou recontaminação dos pães, quando estes ficam no mesmo ambiente de processo.

Morassi et al. (2020) apresentaram resultados semelhantes para bolos, onde a matéria-prima, no caso, farinha de trigo, promoveu contaminações no ambiente e nos bolos. Portanto, as perdas relacionadas à presença de fungos no trigo, podem refletir na qualidade final do produto, reduzindo sua vida de prateleira.

Santos et al. (2020) e Morassi et al. (2020) utilizaram microbiologia preditiva em seus respectivos trabalhos e avaliaram as matérias-primas, o ar das áreas durante

e depois do processamento dos pães e bolos, respectivamente. Ambos os trabalhos apontaram que os modelos preditivos podem ser eficientes para mostrar que, se as matérias-primas já apresentam contaminações por esporos de fungos, estes podem contaminar o ambiente e também o produto acabado, principalmente em áreas de panificação onde a linha de produção é toda aberta.

Considerações finais

Neste capítulo, destacou-se a importância de todas as etapas envolvidas na obtenção de produtos derivados de trigo, desde o campo até o processamento da farinha. Foi enfatizada a importância da etapa da secagem para a efetiva redução de atividade de água, como medida para evitar perdas na etapa de armazenamento, bem como a proliferação de insetos-praga e de fungos potenciais produtores de micotoxinas.

Referências

ABITRIGO. Associação Brasileira da Indústria do Trigo. Estatísticas Trigo. **Produção mundial de trigo**. Maio 2020. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/wp-content/uploads/2019/09/PRODU%C3%87%C3%83O-MUNDIAL-DE-TRIGO-USDA-2020.pdf>. Acesso em: 9 ago. 2020.

AWIKA, J. M. Major cereal grains production and use around the world. In: AWIKA, J. M.; PIIRONEN, V.; BEAN, S. (Ed.). **Advances in Cereal Science: Implications to Food Processing and Health Promotion**. Washington-D.C: American Chemical Society, sept. 2011. v. 1089, Chap. 1, p. 1-13. DOI 10.1021/bk-2011-1089.ch001.

BALOGH, U. K. **Wheat**: Post-harvest Operations. Islamabad, Paquistão: Pakistan Agricultural Research Council (PARC), 1999. 21 p. (Post-harvest Compendium). Disponível em: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compendium_-_WHEAT.pdf. Acesso em: 9 ago. 2020.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; FONTANA, A. J.; SCHMIDT, S. J.; LABUZA, T. P. (Ed.). **Water Activity in Foods - Fundamentals and Applications**. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2007. 482 p. (IFT PRESS).

BATEY, I. Maintaining grain quality during storage and transport. In: WRIGLEY, C.; BATEY, I.; MISKELLY, D. (Ed.). **Cereal Grains - Assessing and Managing Quality**. 2nd. ed. Woodhead Publishing, an imprint of Elsevier, 2017. Chap. 20, p. 571-590. (Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition).

BORTOLOTO, G. D. S. **Estratégias de controle e descontaminação do trigo em grãos (*Triticum aestivum* L.) com relação a fungos, micotoxinas e agrotóxicos utilizando compostos químicos e ozônio gasoso**. 2014. 323 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos Florianópolis, 2014.

CARNEIRO, L. M. T. A.; BIAGI, J. D.; FREITAS, J. G. de; CARNEIRO, M. C.; FELÍCIO, J. C. Diferentes épocas de colheita, secagem e armazenamento na qualidade de grãos de trigo comum e duro. **Bragantia**, v. 64, n. 1, p. 127-137, 2005. DOI 10.1590/S0006-87052005000100014

CHANG, Y. K.; STEEL, C. J.; CLERICI, M. T. P. S. Use of microwave radiation to process cereal-based products. In: GRUNDAS, S. (Ed.). **Advances in Induction and Microwave Heating of Mineral and Organic Materials**. Rijeka, Croatia: InTechOpen, 2013. p. 531-552. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/advances-in-induction-and-microwave-heating-of-mineral-and-organic-materials/the-use-of-microwave-radiation-energy-to-process-cereal-root-and-tuber-based-products>. Acesso em: 9 ago. 2020.

CLERICI, M. T. P. S.; MONTENEGRO, FLÁVIO M.; MARSAIOLI JUNIOR, A.; BERTELI, M. N. **Equipamento processador por micro-ondas para tratamento de materiais alimentícios**. Instituição onde foi depositada: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. BR1020190273. Depósito: 19 Dec. 2019.

CLERICI, M. T. P. S.; MONTENEGRO, FLÁVIO M.; SAMPAIO, U. M.; MARSAIOLI JUNIOR, A.; BERTELI, M. N.; AMORIM FILHO, J. **Dispositivo gerador de plasma não térmico por micro-ondas para tratamento contínuo de modificação de amidos**. Instituição onde foi depositada: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. BR10201902710. Depósito: 18 Dec. 2019.

DE MORI, C.; ANTUNES, J. M.; FAÉ, G. S.; ACOSTA, A. da. S. **Trigo : O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 314 p. (Coleção 500 perguntas, 500 respostas). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/144769/1/ID43609-2016LVTrigo.pdf>. Acesso em: 9 ago. 2020.

DELIBERALI, J.; OLIVEIRA, M.; DURIGON, A.; DIAS, A. R. G.; GUTKOSKI, L. C.; ELIAS, M. C. Efeitos de processo de secagem e tempo de armazenamento na qualidade tecnológica de trigo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 5, p. 1285-1292, Sept./Oct. 2010. DOI 10.1590/S1413-70542010000500029.

ELIAS, M. C.; LOPES, V.; GUTKOSKI, L. C.; OLIVEIRA, M.; MAZZUTTI, S.; DIAS, A. R. G. Umidade de colheita, métodos de secagem e tempo de armazenamento na qualidade tecnológica de grãos de trigo (cv. 'Embrapa 16'). **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 25-30, jan./fev. 2009. DOI 10.1590/S0103-84782009000100005.

FARKAS, J. Z. Physical methods of food preservation. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R. (Ed.). **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. 3rd ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology Press, 2007. p. 685-712.

HAGSTRUM, D. W.; PHILLIPS, T. W.; CUPERUS, G. **Stored Product Protection**. Manhattan, KS: Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service, 2012. 350 p. Disponível em: <http://www.bookstore.ksre.ksu.edu/pubs/S156.pdf>. Acesso em: 18 dez. 2019.

IAMANAKA, B. T.; OLIVEIRA, I. S.; TANIWAKI, M. H. Micotoxinas em alimentos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 7, p. 138-161, 2010. Disponível em: www.journals.ufrpe.br/index.php/apca/article/download/128/117. Acesso em: 27 dez. 2019.

KEHL, K. **Dessecação pré-colheita na produção de sementes de trigo**. 2015. 40 p. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes Pelotas-RS.

KHANEHGAH, A. M.; FAKHRI, Y.; GAHRUIE, H. H.; NIAKOUSARI, M.; SANT'ANA, A. S. Mycotoxins in cereal-based products during 24 years (1983-2017): A global systematic review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 91, p. 95-105, Sept. 2019. DOI 10.1016/j.tifs.2019.06.007.

KHANEHGAH, A. M.; MARTINS, L.; VON HERTWIG, A. M.; BERTOLDO, R.; SANT'ANA, A. S. Deoxynivalenol and its masked forms: Characteristics, incidence, control and fate during wheat and wheat based products processing - A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 13-24, Jan. 2018. DOI 10.1016/j.tifs.2017.10.012.

KNOX, O. G. G.; MCHUGH, M. J.; FOUNTAINE, J. M.; HAVIS, N. D. Effects of microwaves on fungal pathogens of wheat seed. **Crop Protection**, v. 50, p. 12-16, Aug. 2013. DOI 10.1016/j.cropro.2013.03.009.

KUMAR, D.; KALITA, P. Reducing postharvest losses during storage of grain crops to strengthen food security in developing countries. **Foods**, v. 6, n. 1, p. 1-22, 2017. DOI 10.3390/foods6010008.

LOPES, L. dos S. **Avaliação quantitativa de riscos de fumonisina em milho produzido em diferentes regiões do Brasil: Influência das condições climáticas**. 2019. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, - Campinas, SP.

- MORASSI, L. L. P.; BERNARDI, A. O. AMARAL, A. L. P. M.; CHAVES, R. D.; SANTOS, J. L. P.; COPETTI, M. V.; SANT'ANA, A. S. Fungi in cake production chain: Occurrence and evaluation of growth potential in different cake formulations during storage. **Food Research International**, v. 106, p. 141-148, April 2018. DOI 10.1016/j.foodres.2017.12.075.
- OLIVEIRA, L. da C.; GUTKOSKI, L. C.; ELIAS, M. C.; MAZUTTI, S.; AOSANI, E.; ROCHA, J. C. Efeito da temperatura de secagem na qualidade de grãos de aveia branca. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 2, p. 313-319, mar./abr. 2010. DOI 10.1590/S1413-70542010000200007.
- PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and Food Spoilage**. 3rd ed. New York: Springer, 2009. 520 p.
- POMERANZ, Y. (Ed.). **Wheat is Unique**: structure, composition, processing, end-use properties, and products. Saint Paul, Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, 1989. 716 p.
- PORTELLA, J. A.; EICHELBERGER, L. **Uso de gás liquefeito de petróleo na secagem estacionária de milho em secador de leito fixo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2001. 4 p. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico online, 64). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co64.htm. Acesso em: 20 Ago 2020.
- PRESCOTT, J. M.; BURNETT, P. A.; SAARI, E. E.; RANSOM, J. K.; BOWMAN, J.; DE MILLIANO, W.; SINGH, R. P.; GELETA, A. **Wheat diseases and pests**: A guide for field identification. Mexico: CIMMYT, 1986. 135 p.
- ROCHA, J. L. V. Operações na armazenagem de grãos. In: NEVES FILHO, L. de C. **Armazenamento de Gêneros e Produtos Alimentícios**. São Paulo: Governo do Estado de São Paulo, 1982. p. 45-66.
- SANTOS, J. L. P. dos; SAMAPUNDO, S.; DJUNAIDI, S.; VERMEULEN, A.; SANT'ANA, A. S.; VAN IMPE, J.; DEVLIEGHERE, F. Effect of storage temperature, water activity, oxygen headspace concentration and pasteurization intensity on the time to growth of *Aspergillus fischerianus* (teleomorph *Neosartorya fischeri*). **Food Microbiology**, v. 88, n. 103406, Jun. 2020. DOI 10.1016/j.fm.2019.103406.
- SANTOS, J. L. P.; SAMAPUNDO, S.; PIMENTEL, G. C.; VAN IMPE, J.; SANT'ANA, A. S.; DEVLIEGHERE, F. Assessment of minimum oxygen concentrations for the growth of heat-resistant moulds. **Food Microbiology**, v. 84, article 103243, Dec. 2019. DOI 10.1016/j.fm.2019.103243.
- SILVA, L. C. da. Secagem de grãos. **Grãos Brasil: da semente ao consumo**, v. 3, n. 14, p. 10-14, maio 2004.

TIBOLA, C. S.; MORI, C.; GUARIENTI, E. M.; LORINI, I.; LIMA, M. I. P. M.; MIRANDA, M. Z. De. Gestão da qualidade do trigo na pós-colheita. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. Da (Ed.). **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 2011. p. 391-425. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/204223/1/CNPT-ID42414.pdf>. Acesso em: 9 ago. 2020.

TIBOLA, C. S.; FERNANDES, J. M. C; DEL PONTE, E. M.; MALLMANN, C. A.; DILKIN, P.; LIMA, M. I. P. M.; PAVAN, W. **Indicações técnicas para minimizar a contaminação de trigo por micotoxinas**. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 2013. 34 p. (Embrapa Trigo. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 11). Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/126296/1/ID-42929-FL-08526.pdf>. Acesso em: 9 ago. 2020.

USDA. United States Department of Agriculture. **Pathogen Modeling Program (PMP) Online**. Division of Food Science and Technology Fact Sheet CSIRO - August 1995. Disponível em: <https://pmp.errc.ars.usda.gov/WaterActivity.aspx>. Acesso em: 9 ago. 2020.

VADIVAMBAL, R.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Wheat disinfestation using microwave energy. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, n. 4, p. 508-514, Dec. 2007. DOI 10.1016/j.jspr.2007.01.007.

VICAS, S.; LEUCA, T.; SOPRONI, D.; ARION, M.; MOLNAR, C.; HATHAZI, F. I. Experimental results of wheat seeds processed in microwave field. **Journal of Electrical and Electronics Engineering**, v. 5, n. 1, p. 269-272, May. 2012. Disponível em: <https://electroinf.uoradea.ro/images/articles/CERCETARE/Reviste/JEEE/JEEE-V5N1-MAY2012.pdf>. Acesso em: 18 dez. 2019.

